(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum Internationales Büro





(43) Internationales Veröffentlichungsdatum 13. November 2003 (13.11.2003)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer WO 03/093482 A2

(51) Internationale Patentklassifikation7: C12N 15/82, C12P 7/64

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP03/04297

(22) Internationales Anmeldedatum:

25. April 2003 (25.04.2003)

(25) Einreichungssprache:

Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache:

Deutsch

(30) Angaben zur Priorität: 102 19 203.0 29. April 2002 (29.04.2002) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): BASF PLANT SCIENCE GMBH [DE/DE]; Carl-Bosch-Str. 38, 67056 Ludwigshafen (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): CIRPUS, Petra

[DE/DE]; Landteilstr.12, 68163 Mannheim (DE). RENZ, Andreas [DE/DE]; Heinrich-von-Kleist-Str.6, 67117 Limburgerhof (DE). LERCHL, Jens [DE/SE]; Onsjövägen 17, S-26831 Svalöv (SE). KUIJPERS, Anne-Marie [NL/DE]; Pappelstr. 31, 67166 Otterstadt (DE).

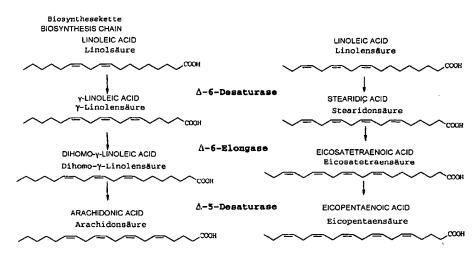
(74) Anwalt: PRESSLER, Uwe; c/o BASF Aktiengesellschaft, 67056 Ludwigshafen (DE).

- (81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE,

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: METHOD FOR PRODUCING MULTIPLE UNSATURATED FATTY ACIDS IN PLANTS

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG MEHRFACH UNGESÄTTIGTER FETTSÄUREN IN PFLANZEN



(57) Abstract: The invention relates to a method for producing fatty acid esters which contain unsaturated fatty acids with at least three double-bonds, and free unsaturated fatty acids having a content of at least 1 wt.- %, in relation to the total amount of fatty acids contained in plants, by expression of at least one nucleic acid sequence which codes for a polypeptide having D-6-desaturase activity, and at least one nucleic acid sequence which codes for a polypeptide having D-6-elongase activity. Advantageously, said nucleic acid sequences can be expressed, optionally, together with a third nucleic acid sequence in the transgenic plant, which codes for a polypeptide having D-5-desaturase activity. The invention also relates to the use of defined nucleic acid sequences which code for polypeptides having a D-6-desaturase activity, D-6-elongase activity or D-5-desaturase activity, selected from a group of nucleic acid sequences, or to the use of nucleic acid structures containing the above-mentioned nucleic acid sequences.

WO 03/093482 A2



DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

Veröffentlicht:

 ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von Fettsäureester, die ungesättigte Fettsäuren mit mindestens drei Doppelbindungen enthalten, sowie freien ungesättigten Fettsäuren mit einem Gehalt von mindestens 1 Gew.-% bezogen auf die gesamten in der Pflanzen enthaltenden Fettsäuren durch Expression mindestens einer Nukleinsäuresequenz, die für ein Polypeptid mit D-6-Desaturaseaktivität codiert, und mindestens einer Nukleinsäuresequenz, die für ein Polypeptid mit D-6-Elongaseaktivität codiert. Vorteilhaft können diese Nukleinsäuresequenzen gegebenenfalls zusammen mit einer dritten Nukleinsäuresequenz, die für ein Polypeptid mit D-5-Desaturaseaktivität codiert, in der transgenen Pflanze exprimiert werden. Die Erfindung betrifft weiterhin die Verwendung definierter Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit einer D-6-Desaturaseaktivität, D-6-Elongaseaktivität oder D-5-Desaturaseaktivität codieren ausgewählt aus einer Gruppe von Nukleinsäuresequenzen bzw. die Verwendung von Nukleinsäurekonstrukten enthalten die vorgenannten Nukleinsäuresequenzen.

Verfahren zur Herstellung mehrfach ungesättigter Fettsäuren in Pflanzen

5 Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von Fettsäureester, die ungesättigte Fettsäuren mit mindestens drei Doppelbindungen enthalten, sowie freien ungesättigten Fettsäuren mit einem Gehalt von mindestens 1 Gew.-% bezogen auf die gesamten in der Pflanzen enthaltenden Fettsäuren durch Expression mindestens einer Nukleinsäuresequenz, die für ein Polypeptid mit Δ-6-Desaturaseaktivität codiert, und mindestens einer Nukleinsäuresequenz, die für ein Polypeptid mit Δ-6-Elongase15 aktivität codiert. Vorteilhaft können diese Nukleinsäuresequenzen gegebenenfalls zusammen mit einer dritten Nukleinsäuresequenz, die für ein Polypeptid mit Δ-5-Desaturaseaktivität codiert, in der transgenen Pflanze exprimiert werden.

20 Die Erfindung betrifft weiterhin die Verwendung definierter Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit einer Δ-6-Desaturaseaktivität, Δ-6-Elongaseaktivität oder Δ-5-Desaturaseaktivität codieren ausgewählt aus einer Gruppe von Nukleinsäuresequenzen bzw. die Verwendung von Nukleinsäure-25 konstrukten enthalten die vorgenannten Nukleinsäuresequenzen.

Bestimmte Produkte und Nebenprodukte natürlich vorkommender Stoffwechselprozesse in mikrobiellen Zellen oder in den Zellen von Tieren und vorteilhaft Pflanzen sind für ein breites Spektrum 30 an Industrien, einschließlich der Futtermittel-, Nahrungsmittel-, Kosmetik- und pharmazeutischen Industrie, nützlich. Zu diesen gemeinsam als "Feinchemikalien" bezeichneten Molekülen gehören auch Lipide und Fettsäuren, unter denen eine beispielhafte Klasse die mehrfach ungesättigten Fettsäuren sind. Mehrfach ungesättigte 35 Fettsäuren (polyunsaturated \underline{f} atty \underline{a} cids, PUFAs) werden beispielsweise Nahrungsmittel für Kinder zugegeben, um einen höheren Nährwert dieser Nahrungsmittel zu erzeugen. PUFAs haben zum Beispiel einen positiven Einfluss auf den Cholesterinspiegel im Blut von Menschen und eignen sich daher zum Schutz gegen Herzkrank-40 heiten. Feinchemikalien wie mehrfach ungesättigte Fettsäuren (polyunsaturated fatty acids, PUFAs) lassen sich aus tierischen Quellen, wie beispielsweise Fisch, isolieren oder mit Mikroorganismen durch Züchtung von Mikroorganismen, die so entwickelt worden sind, dass sie große Mengen eines oder mehrerer 45 gewünschter Moleküle produzieren und akkumulieren oder sezer-

nieren, im großen Maßstab herstellen.

Fettsäuren und Triglyceride haben eine Vielzahl von Anwendungen in der Lebensmittelindustrie, der Tierernährung, der Kosmetik und im Pharmabereich. Je nachdem ob es sich um freie gesättigte oder ungesättigte Fettsäuren oder um Triglyceride mit einem erhöhten 5 Gehalt an gesättigten oder ungesättigten Fettsäuren handelt, sind sie für die unterschiedlichsten Anwendungen geeignet. Mehrfach ungesättigte Ω -3-Fettsäuren und Ω -6-Fettsäuren stellen dabei einen wichtigen Bestandteil der tierischen und menschlichen Nahrung dar. Aufgrund der heute üblichen Zusammensetzung der 10 menschlichen Nahrung ist ein Zusatz von mehrfach ungesättigten Ω -3-Fettsäuren, die bevorzugt in Fischölen vorkommen,zur Nahrung besonders wichtig. So werden beispielsweise mehrfach ungesättigte Fettsäuren wie Docosahexaensäure (=DHA, C22:6^{A4,7,10,13,16,19}) oder Eisosapentaensäure (= EPA, C20: $5^{\Delta 5,8,11,14,17}$) Babynahrung zur Erhöhung 15 des Nährwertes zugesetzt. Der DHA wird dabei ein positiver Effekt auf die Entwicklung des Gehirns zugeschrieben.

Hauptsächlich werden die verschiedenen Fettsäuren und Triglyceride aus Mikroorganismen wie Mortierella oder aus Öl20 produzierenden Pflanzen wie Soja, Raps, Sonnenblume, Algen wie Cryptocodinium oder Phaeodactylum und weiteren gewonnen, wobei sie in der Regel in Form ihrer Triacylglyceride (= Triglyceride = Triglycerole) anfallen. Sie können aber auch aus Tieren wie z.B. Fischen gewonnen werden. Die freien Fettsäuren werden
25 vorteilhaft durch Verseifung hergestellt. Höhere mehrfach ungesättigte Fettsäuren wie DHA, EPA, Arachidonsäure (= ARA, C20:4^{Δ5,8,11,14}), Dihomo-γ-linolensäure (C20:3^{Δ8,11,14}) oder Docosapentaensäure (DPA, C22:5^{Δ7,10,13,16,19}) lassen sich nicht aus Ölfruchtpflanzen wie Raps, Soja, Sonnenblume, Färberdistel oder anderen
30 isolieren. Übliche natürliche Quellen für diese Fettsäuren sind Fische wie Hering, Lachs, Sardine, Goldbarsch, Aal, Karpfen, Forelle, Heilbutt, Makrele, Zander oder Thunfisch oder Algen.

Je nach Anwendungszweck sind Öle mit gesättigten oder unge- 35 sättigten Fettsäuren bevorzugt, so sind z.B. in der humanen Ernährung Lipide mit ungesättigten Fettsäuren speziell mehrfach ungesättigten Fettsäuren bevorzugt. Den mehrfach ungesättigten Ω -3-Fettsäuren wir dabei ein positiver Effekt auf den Cholesterinspiegel im Blut und damit auf die Möglichkeit der Prävention einer Herzerkrankung zugeschrieben. Durch Zugabe dieser Ω -3-Fettsäuren zu Nahrung kann das Risiko einer Herzerkrankung, eines Schlaganfalls oder von Bluthochdruck deutlich verringert werden. Auch entzündliche speziell chronisch entzündliche Prozesse im Rahmen immunologischer Erkrankungen wie rheumatroider Arthritis lassen sich durch Ω -3-Fettsäuren positiv beeinflussen. Sie werden deshalb Lebensmitteln speziell diätischen Lebensmitteln zugegeben oder finden in Medikamenten Anwendung.

- Ω -6-Fettsäuren wie Arachidonsäure haben bei diesen rheumatischen Erkrankungen aufgrund unserer üblichen Nahrungsmittelzusammensetzung eher einen negativen Effekt auf diese Krankheiten.
- 5 Ω -3- und Ω -6-Fettsäuren sind Vorläufer von Gewebshormonen, den sogenannten Eicosanoiden wie den Prostaglandinen, die sich von der Dihomo- γ -linolensäure, der Arachidonsäure und der Eicosapentaensäure ableiten, den Thromoxanen und Leukotrienen, die sich von der Arachidonsäure und der Eicosapentaensäure ableiten. Eicosa-
- 10 noide (sog. PG_2 -Serie), die aus Ω -6-Fettsäuren gebildet werden fördern in der Regel Entzündungsreaktionen, während Eicosanoide (sog. PG_3 -Serie) aus Ω -3-Fettsäuren geringe oder keine entzündungsfördernde Wirkung haben.
- 15 Aufgrund ihrer positiven Eigenschaften hat es in der Vergangenheit nicht an Ansätzen gefehlt, Gene, die an der Synthese von Fettsäuren bzw. Triglyceriden beteiligt sind, für die Herstellung von Ölen in verschiedenen Organismen mit geändertem Gehalt an ungesättigten Fettsäuren verfügbar zu machen. So wird in
- 20 WO 91/13972 und seinem US-Äquivalent eine Δ -9-Desaturase beschrieben. In WO 93/11245 wird eine Δ -15-Desaturase in WO 94/11516 wird eine Δ -12-Desaturase beansprucht. Weitere Desaturasen werden beispielsweise in EP-A-O 550 162, WO 94/18337, WO 97/30582, WO 97/21340, WO 95/18222, EP-A-O 794 250, Stukey
- 25 et al., J. Biol. Chem., 265, 1990: 20144-20149, Wada et al., Nature 347, 1990: 200-203 oder Huang et al., Lipids 34, 1999: 649-659 beschrieben. Die biochemische Charakterisierung der verschiedenen Desaturasen ist jedoch bisher nur unzureichend erfolgt, da die Enzyme als membrangebundene Proteine nur sehr
- 30 schwer zu isolieren und zu charakterisieren sind (McKeon et al., Methods in Enzymol. 71, 1981: 12141-12147, Wang et al., Plant Physiol. Biochem., 26, 1988: 777-792). In der Regel erfolgt die Charakterisierung membrangebundener Desaturasen durch Einbringung in einen geeigneten Organismus, der anschließend auf Enzym-
- 35 aktivität mittels Edukt- und Produktanalyse untersucht wird. $\Delta-6-$ Desaturasen werden in WO 93/06712, US 5,614,393, US5614393, WO 96/21022, WO00/21557 und WO 99/27111 beschrieben und auch die Anwendung zur Produktion in transgenen Organismen beschrieben wie in WO98/46763 WO98/46764, WO9846765. Dabei wird auch die
- 40 Expression verschiedener Desaturasen wie in WO99/64616 oder WO98/46776 und Bildung polyungesättigter Fettsäuren beschrieben und beansprucht. Bzgl. der Effektivität der Expression von Desaturasen und ihren Einfluss auf die Bildung polyungesättigter Fettsäuren ist anzumerken, dass durch Expression einer einzelnen
- 45 Desaturase wie bisher beschrieben lediglich geringe Gehalte an Δ -6-ungesättigten Fettsäuren/Lipiden wie z.B. gamma-Linolensäure und Stearidonsäure erreicht wurden. Weiterhin wurde in der Regel

ein Gemisch aus ω 3 und ω 6 Fettsäuren erhalten, da alle bisher beschriebenen Δ -6-Desaturasen zum Beispiel Linolsäure (ω -6-Fettsäure) als auch α -Linolensäure (ω -3-Fettsäure) umsetzten.

- 5 Besonders geeignete Mikroorganismen zur Herstellung von PUFAs sind Mikroorganismen wie Thraustochytrien oder Schizochytrien-Stämme, Algen wie Phaeodactylum tricornutum oder Crypthecodinium-Arten, Ciliaten, wie Stylonychia oder Colpidium, Pilze, wie Mortierella, Entomophthora oder Mucor. Durch Stammselektion
- 10 ist eine Anzahl von Mutantenstämmen der entsprechenden Mikroorganismen entwickelt worden, die eine Reihe wünschenswerter Verbindungen, einschließlich PUFAs, produzieren. Die Mutation und Selektion von Stämmen mit verbesserter Produktion eines bestimmten Moleküls wie den mehrfach ungesättigten Fettsäuren ist
- 15 jedoch ein zeitraubendes und schwieriges Verfahren. Deshalb werden, wenn immer möglich wie oben beschrieben gentechnologische Verfahren bevorzugt. Mit Hilfe der vorgenannten Mikroorganismen lassen sich jedoch nur begrenzte Mengen der gewünschten mehrfach ungesättigten Fettsäuren wie DPA, EPA oder ARA herstellen. Wobei
- 20 diese in der Regel je nach verwendeten Mikroorganismus als Fettsäuregemische aus beispielsweise EPA, DPA und DHA anfallen.

Alternativ kann die Produktion von Feinchemikalien geeigneterweise über die Produktion in Pflanzen, die so entwickelt sind,

- 25 dass sie die vorstehend genannten PUFAs herstellen, im großen Maßstab durchgeführt werden. Besonders gut für diesen Zweck geeignete Pflanzen sind Ölfruchtpflanzen, die große Mengen an Lipidverbindungen enthalten wie Raps, Canola, Lein, Soja, Sonnenblumen, Borretsch und Nachtkerze. Aber auch andere Nutzpflanzen,
- 30 die Öle oder Lipide und Fettsäuren enthalten, sind gut geeignet, wie in der eingehenden Beschreibung dieser Erfindung erwähnt. Mittels herkömmlicher Züchtung ist eine Reihe von Mutantenpflanzen entwickelt worden, die ein Spektrum an wünschenswerten Lipiden und Fettsäuren, Cofaktoren und Enzymen produzieren.
- 35 Die Selektion neuer Pflanzensorten mit verbesserter Produktion eines bestimmten Moleküls ist jedoch ein zeitaufwändiges und schwieriges Verfahren oder sogar unmöglich, wenn die Verbindung in der entsprechenden Pflanze nicht natürlich vorkommt, wie im Fall von mehrfach ungesättigten C_{18} -, C_{20} -Fettsäuren und C_{22} -Fett-
- 40 säuren und solchen mit längeren Kohlenstoffketten.

Aufgrund der positiven Eigenschaften ungesättigter Fettsäuren hat es in der Vergangenheit nicht an Ansätzen gefehlt, diese Gene, die an der Synthese von Fettsäuren bzw. Triglyceriden

45 beteiligt sind, für die Herstellung von Ölen in verschiedenen Pflanzen mit einem geändertem Gehalt an mehrfach ungesättigten Fettsäuren verfügbar zu machen. Bisher konnten jedoch länger-

5

kettige mehrfach ungesättigte C_{20} - und/oder C_{22} -Fettsäuren wie EPA oder ARA nicht in Pflanzen hergestellt werden.

Es bestand daher die Aufgabe ein Verfahren zur Herstellung von 5 mehrfach ungesättigten Fettsäureestern und/oder freien mehrfach ungesättigten Fettsäuren mit mindestens drei Doppelbindungen im Fettsäuremolekül zu entwickeln. Diese Aufgabe wurde durch das erfindungsgemäße Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der allgemeinen Formel I:

10

15

in transgenen Pflanzen mit einem Gehalt von mindestens 1 Gew.-% bezogen auf die gesamten Fettsäuren dadurch gekennzeichnet, dass das Verfahren folgende Schritte umfasst:

20

45

- a) Einbringen mindestens einer Nukleinsäuresequenz in eine Pflanze, die für ein Polypeptid mit einer Δ -6-Desaturaseaktivität codiert; sowie
- 25 b) Einbringen mindestens einer zweiten Nukleinsäuresequenz, die für ein Polypeptid mit einer Δ -6-Elongaseaktivität codiert; und
- c) gegebenenfalls Einbringen einer dritten Nukleinsäuresequenz, die für ein Polypeptid mit einer Δ -5-Desaturaseaktivität codiert;
 - d) anschließend kultivieren und ernten der Pflanzen; und
- 35 wobei die Variablen und Substituenten in der Formeln I folgende Bedeutung haben:
- R¹ = -OH, Coenzym A-(Thioester), Phosphatidylcholin-, Phosphatid-ylethanolamin-, Phoshatidylglycerol-, Diphosphatidyl-glycerol-, Phosphatidylserin-, Phosphatidylinositol-, Sphingolipid-, Glycoshingolipid- oder einen Rest der folgenden allgemeinen Formel II

6

$$H_2C-O-R^2$$
 H_2C-O-F
(II)

5

 $R^2 = H$, Phosphatidylcholin-, Phosphatidylethanolamin-, Phosphatidylglycerol-, Diphosphatidylglycerol-, Phosphatidylserin-, Phosphatidylinositol-, Shingolipid-, Glycoshingolipid-, 10 Glycoshingolipid- oder gesättigtes oder ungesättigtes C2-C24-Alkylcarbonyl-,

 R^3 = H, gesättigtes oder ungesättigtes C_2 - C_{24} -Alkylcarbonyl-, oder

15 R² und R³ unabhängig voneinander einen Rest der allgemeinen Formel Ia

20
$$\frac{CH_2}{\ln \left(CH_2 - CH_2\right)_m \left(CH_2\right)_p - CH_3}$$
 (Ia),

n = 3.4 oder 6, m = 3, 4 oder 5 und p = 0 oder 3, bevorzugt 25 bedeutet n = 3, m = 4 oder 5 und p = 0 oder 3.

R1 bezeichnet in den Verbindungen der Formel I -OH (Hydroxyl-), AcetylCoenzym A-, Phosphatidylcholin-, Phosphatidylethanolamin-, Phoshatidylglycerol-, Diphosphatidylglycerol-, Phosphatidyl-30 serin-, Phosphatidylinositol-, Sphingolipid-, Glycoshingolipidoder einen Rest der folgenden allgemeinen Formel II

35
$$\begin{array}{c} H_{2}C-O-R^{2} \\ HC-O-R^{3} \\ H_{2}C-O + \end{array}$$
 (II)

35

Die vorgenannten Reste für \mathbb{R}^1 sind jeweils als Ester bzw. Thio-40 ester an die Verbindungen der allgemeinen Formel I gebunden.

R² bezeichnet in den Verbindungen der Formel II Wasserstoff, Phosphatidylcholin-, Phosphatidylethanolamin-, Phoshatidylglycerol-, Diphosphatidylglycerol-, Phosphatidylserin-, 45 Phosphatidylinositol-, Shingolipid-, Glycoshingolipid-, Glycoshingolipid- oder gesättigtes oder ungesättigtes C2-C24-Alkylcarbonyl-.

7

Als ungesättigtes oder gesättigtes C2-C22-Alkylcarbonyl- seien Reste wie Ethylcarbonyl-, n-Propylcarbonyl-, n-Butylcarbonyl-, n-Pentylcarbonyl-, n-Hexylcarbonyl-,n-Heptylcarbonyl-, n-Octylcarbonyl-, n-Nonylcarbonyl-, n-Decylcarbonyl-, n-Undecylcarbon-5 yl-, n-Dodecylcarbonyl-, n-Tridecylcarbonyl-, n-Tetradecylcarbonyl-, n-Pentadecylcarbonyl-, n-Hexadecylcarbonyl-, n-Heptadecylcarbonyl-, n-Octadecylcarbonyl-, n-Nonadecylcarbonyl-, n-Eicosylcarbonyl-, n-Docosanylcarbonyl- oder n-Tetracosanylcarbonyl-, die ein oder mehrere Doppelbindungen enthalten können. Bevorzugt 10 sind gesättigte oder ungesättigte C_{10} - C_{22} -Alkylcarbonylreste wie n-Decylcarbonyl-, n-Undecylcarbonyl-, n-Dodecylcarbonyl-, n-Tridecylcarbonyl-, n-Tetradecylcarbonyl-, n-Pentadecylcarbonyl-, n-Hexadecylcarbonyl-, n-Heptadecylcarbonyl-, n-Octadecylcarbonyl-, n-Nonadecylcarbonyl-, n-Eicosylcarbonyl-, n-Docosanylcarbon-15 yl- oder n-Tetracosanylcarbonyl-, die ein oder mehrere Doppelbindungen enthalten. Besonders bevorzugt sind gesättigte oder ungesättigte C_{10} - C_{22} -Alkylcarbonylreste wie C_{10} -Alkylcarbonyl-, C_{11} -Alkylcarbonyl-, C₁₂-Alkylcarbonyl-, C₁₃-Alkylcarbonyl-, C₁₄-Alkylcarbonyl-, C16-Alkylcarbonyl-, C18-Alkylcarbonyl-, C20-Alkylcarbon-20 yl-, C_{22} -Alkylcarbonyl- oder C_{24} -Alkylcarbonyl-Reste, die ein oder mehrere Doppelbindungen enthalten. Ganz besonders bevorzugt sind gesättigte oder ungesättigte C_{16} - C_{22} -Alkylcarbonylreste wie C₁₆-Alkylcarbonyl-, C₁₈-Alkylcarbonyl-, C₂₀-Alkylcarbonyl- oder C_{22} -Alkylcarbonyl-Reste, die ein oder mehrere Doppelbindungen ent-25 halten. Bevorzugt enthalten die genannten Reste zwei, drei, vier oder fünf Doppelbindungen. Besonders bevorzugt enthalten die Reste drei, vier oder fünf Doppelbindungen. Ganz besonders bevorzugt sind C₁₈-Alkylcarbonylreste, die eine, zwei, drei oder vier Doppelbindungen enthalten, und C_{20} -Alkylcarbonylreste, die drei, 30 vier oder fünf Doppelbindungen enthalten. Alle genannten Reste leiten sich von den entsprechenden Fettsäuren ab.

 ${\rm R}^3$ bezeichnet in den Verbindungen der Formel II Wasserstoff, gesättigtes oder ungesättigtes ${\rm C}_2{\rm -C}_{24}{\rm -Alkylcarbonyl}$.

35

Als ungesättigtes oder gesättigtes C₂-C₂₂-Alkylcarbonyl- seien Reste wie Ethylcarbonyl-, n-Propylcarbonyl-, n-Butylcarbonyl-, n-Pentylcarbonyl-, n-Hexylcarbonyl-, n-Heptylcarbonyl-, n-Octyl-carbonyl-, n-Nonylcarbonyl-, n-Decylcarbonyl-, n-Undecylcarbon-yl-, n-Dodecylcarbonyl-, n-Tridecylcarbonyl-, n-Tetradecylcarbonyl-, n-Pentadecylcarbonyl-, n-Hexadecylcarbonyl-, n-Heptadecyl-carbonyl-, n-Octadecylcarbonyl-, n-Nonadecylcarbonyl-, n-Eicosylcarbonyl-, n-Docosanylcarbonyl- oder n-Tetracosanylcarbonyl-, die ein oder mehrere Doppelbindungen enthalten können. Bevorzugt sind gesättigte oder ungesättigte C₁₀-C₂₂-Alkylcarbonyl-este wie n-Decylcarbonyl-, n-Undecylcarbonyl-, n-Dodecylcarbonyl-, n-Tridecylcarbonyl-, n-Tetradecylcarbonyl-, n-Pentadecylcarbonyl-,

20

WO 03/093482 PCT/EP03/04297

n-Hexadecylcarbonyl-, n-Heptadecylcarbonyl-, n-Octadecylcarbonyl-, n-Nonadecylcarbonyl-, n-Eicosylcarbonyl-, n-Docosanylcarbonyl- oder n-Tetracosanylcarbonyl-, die ein oder mehrere Doppelbindungen enthalten. Besonders bevorzugt sind gesättigte oder un- ${f 5}$ gesättigte ${f C_{10}}{-}{f C_{22}}{-}{f Alkylcarbonylreste}$ wie ${f C_{10}}{-}{f Alkylcarbonyl}{-}$, ${f C_{11}}{-}$ Alkylcarbonyl-, C₁₂-Alkylcarbonyl-, C₁₃-Alkylcarbonyl-, C₁₄-Alkylcarbonyl-, C16-Alkylcarbonyl-, C18-Alkylcarbonyl-, C20-Alkylcarbonyl-, C22-Alkylcarbonyl- oder C24-Alkylcarbonyl-Reste, die ein oder mehrere Doppelbindungen enthalten. Ganz besonders bevorzugt 10 sind gesättigte oder ungesättigte C_{16} - C_{22} -Alkylcarbonylreste wie C_{16} -Alkylcarbonyl-, C_{18} -Alkylcarbonyl-, C_{20} -Alkylcarbonyl- oder C_{22} -Alkylcarbonyl-Reste, die ein oder mehrere Doppelbindungen enthalten. Bevorzugt enthalten die genannten Reste zwei, drei, vier oder fünf Doppelbindungen. Besonders bevorzugt enthalten die 15 Reste drei, vier oder fünf Doppelbindungen. Ganz besonders bevorzugt sind C18-Alkylcarbonylreste, die eine, zwei, drei oder vier Doppelbindungen enthalten, und C20-Alkylcarbonylreste, die drei, vier oder fünf Doppelbindungen enthalten. Alle genannten Reste leiten sich von den entsprechenden Fettsäuren ab.

 ${\sf R^2}$ und ${\sf R^3}$ bezeichnen weiterhin in den Verbindungen der Formel II unabhängig voneinander einen Rest der allgemeinen Formel Ia

$$\begin{array}{c|c}
CH_2 & CH_2 & CH_2 & CH_2 & CH_3 \\
\hline
CH & CH & CH_2 & CH_3 & CH_3
\end{array}$$

30 wobei n = 3, 4 oder 6, m = 3, 4 oder 5 und p = 0 oder 3 bedeutet, bevorzugt bedeutet n = 3, m = 4 oder 5 und p = 0 oder 3.

Die vorgenannten Reste R¹, R² und R³ können auch Substituenten wie Hydoxyl- oder Epoxigruppen tragen oder auch Dreifachbindungen **35** enthalten.

Bei den im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten Nukleinsäuresequenzen handelt es sich um isolierte Nukleinsäuresequenzen, die für Polypeptide mit Δ -5-, Δ -6-Desaturase- oder Δ -6-Elongase-40 aktivität codieren.

Die im Verfahren hergestellten Verbindungen der Formel I enthalten vorteilhaft eine Mischung aus unterschiedlichen Resten R¹, R² oder R³, die sich von unterschiedlichen Glyceriden ableiten 45 lassen. Weiterhin lassen sich die vorgenannten Reste von verschieden Fettsäuren wie kurzkettigen Fettsäuren mit 4 bis 6 C-Atomen, mittelkettigen Fettsäuren mit 8 bis 12 C-Atomen oder

9

langkettigen Fettsäuren mit 14 bis 24 C-Atomen ableiten, bevorzugt sind die langkettigen Fettsäuren.

Im erfindungsgemäßen Verfahren werden vorteilhaft Fettsäureester
5 (= Verbindungen der Formel I) mit mehrfach ungesättigten C₁₈-, C₂₀- und/oder C₂₂-Fettsäuremolekülen mit mindestens zwei Doppelbindungen im Fettsäureester hergestellt. Bevorzugt enthalten diese Fettsäuremoleküle drei, vier oder fünf Doppelbindungen und führen vorteilhaft zur Synthese von γ-Linolensäure (= GLA, 10 C18:3^{Δ6},9,12), Stearidonsäure (= SDA, C18:4^{Δ6},9,12,15), Dihomo-γ-Linolensäure (= DGLA, 20:3^{Δ8},11,14), Eicosatetraensäure (= ETA, C20:4^{Δ5},8,11,14), Arachidonsäure (ARA), Eicosapentaensäure (EPA) oder deren Mischungen, bevorzugt EPA und/oder ARA.

- 15 Die Fettsäureester mit mehrfach ungestättigten C₁₈-, C₂₀- und/oder C₂₂-Fettsäuremolekülen können aus den Organismen, die für die Herstellung der Fettsäureester verwendet wurden, in Form eines Öls oder Lipids beispielsweise in Form von Verbindungen wie Sphingolipide, Phosphoglyceride, Lipide, Glycolipide wie Glycoshingo-
- 20 lipid, Phospholipide wie Phosphatidylethanolamin, Phosphatidylcholin, Phoshatidylserin, Phosphatidylglycerol, Phosphatidylinositol oder Diphosphatidylglycerol, Monoacylglyceride, Diacylglyceride, Triacylglyceride oder sonstige Fettsäureester wie die AcetylCoenzymA-Ester, die die mehrfach ungesättigten Fettsäuren
- 25 mit mindestens zwei bevorzugt drei Doppelbindungen enthalten, isoliert werden. Neben diesen Estern sind die mehrfach ungesättigten Fettsäuren auch als freie Fettsäuren oder gebunden in anderen Verbindungen in den Pflanzen enthalten. In der Regel liegen die verschiedenen vorgenannten Verbindungen (Fettsäure-
- 30 ester und frei Fettsäuren) in der Pflanze in einer ungefähren Verteilung von 80 bis 90 Gew.-% Triglyceride, 2 bis 5 Gew.-% Diglyceride, 5 bis 10 Gew.-% Monoglyceride, 1 bis 5 Gew.-% freie Fettsäuren, 2 bis 8 Gew.-% Phospholipide vor, wobei sich die Summe der verschiedenen Verbindungen zu 100 Gew.-% ergänzt.

35

- Im erfindungsgemäßen Verfahren werden die Verbindungen der allgemeinen Formel I mit einem Gehalt von mindestens 1 Gew.-%, vorteilhaft von mindestens 2 Gew.-%, bevorzugt von mindestens 3 Gew.-%, besonders bevorzugt von mindestens 5 Gew.-%, ganz
- 40 besonders bevorzugt von mindestens 10 Gew.-% bezogen auf die gesamten Fettsäuren in der transgenen Pflanze hergestellt. Da im erfindungsgemäßen Verfahren von den Ausgangsverbindungen Linolsäure (C18:2) bzw. Linolensäure (C18:3) mehrere Reaktionsschritte durchlaufen werden, fallen die Endprodukte des Verfahrens wie
- 45 beispielsweise Arachidonsäure (ARA) oder Eicosapentaensäure (EPA) nicht als Reinprodukte an, es sind immer auch geringe Spuren der Vorstufen im Endprodukt enthalten. Sind in der Ausgangspflanze

sowohl Linolsäure als auch Linolensäure vorhanden, so liegen die Endprodukte wie ARA und EPA als Mischungen vor. Die Vorstufen sollten vorteilhaft nicht mehr als 20 Gew.-%, bevorzugt nicht mehr als 15 Gew.-%, besonders bevorzugt nicht als 10 Gew.-%,

10

- 5 ganz besonders bevorzugt nicht mehr als 5 Gew.-% bezogen auf die Menge des jeweilige Endprodukts betragen. Vorteilhaft werden in einer transgenen Pflanze als Endprodukte nur ARA oder nur EPA im erfindungsgemäßen Verfahren gebunden oder als freie Säuren (siehe Verbindungen der allgemeinen Formel I) hergestellt. Werden beide
- 10 Verbindungen (ARA + EPA) gleichzeitig hergestellt, werden sie vorteilhaft in einem Verhältnis von mindesten 1:2 (EPA:ARA), vorteilhaft von mindestens 1:3, bevorzugt von 1:4, besonders bevorzugt von 1:5 hergestellt.
- 15 Als Organismus für die Herstellung im erfindungsgemäßen Verfahren kommen prinzipiell alle Pflanzen wie Moose, Algen, zweikeimblättrige oder einkeimblättrige Pflanzen in Frage. Vorteilhaft werden Organismen im erfindungsgemäßen Verfahren verwendet, die zu den Öl-produzierenden Organismen gehören, das heißt die für
- 20 die Herstellung von Ölen verwendet werden, wie Algen wie Crypthecodinium, Phaeodactylum oder Pflanzen, insbesondere Pflanzen bevorzugt Ölfruchtpflanzen, die große Mengen an Lipidverbindungen enthalten, wie Erdnuss, Raps, Canola, Sonnenblume, Safflor (Färberdistel), Mohn, Senf, Hanf, Rhizinus, Olive, Sesam,
- 25 Calendula, Punica, Nachtkerze, Königskerze, Distel, Wildrosen, Haselnuss, Mandel, Macadamia, Avocado, Lorbeer, Kürbis, Lein, Soja, Pistazien, Borretsch, Bäume (Ölpalme, Kokosnuss oder Walnuss) oder Feldfrüchte, wie Mais, Weizen, Roggen, Hafer, Triticale, Reis, Gerste, Baumwolle, Maniok, Pfeffer, Tagetes,
- 30 Solanaceen-Pflanzen, wie Kartoffel, Tabak, Aubergine und Tomate, Vicia-Arten, Erbse, Alfalfa oder Buschpflanzen (Kaffee, Kakao, Tee), Salix-Arten sowie ausdauernde Gräser und Futterfeldfrüchte. Bevorzugte erfindungsgemäße Pflanzen sind Ölfruchtpflanzen, wie Erdnuss, Raps, Canola, Sonnenblume, Safflor (Färberdistel),
- 35 Mohn, Senf, Hanf, Rhizinus, Olive, Calendula, Punica, Nachtkerze, Kürbis, Lein, Soja, Borretsch, Bäume (Ölpalme, Kokosnuss).

 Besonders bevorzugt sind C18:2- und/oder C18:3-Fettsäure reiche Pflanzen wie Sonnenblume, Färberdistel, Tabak, Königskerze, Sesam, Baumwolle, Kürbis, Mohn, Nachtkerze, Walnuss, Lein, Hanf,
- **40** Distel oder Färberdistel. Ganz besonders bevorzugt sind Pflanzen wie Färberdistel, Sonnenblume, Mohn, Nachtkerze, Walnuss, Lein oder Hanf.
- Durch die enzymatische Aktivität der im erfindungsgemäßen Ver- 45 fahren verwendeten Nukleinsäuren, die für Polypeptide mit Δ -5-, Δ -6-Desaturase- oder Δ -6-Elongaseaktivität codieren, können unterschiedliche Verbindungen der Formel I hergestellt werden.

Je nach Auswahl der für das erfindungsgemäße Verfahren verwendeten Pflanze lassen sich Mischungen der verschiedenen Verbindungen der allgemeinen Formel I oder einzelne Verbindungen wie EPA oder ARA in freier oder gebundener Form herstellen. Je nachdem welche Fettsäurezusammensetzung in der Ausgangspflanze vorherrscht (C18:2- oder C18:3-Fettsäuren) entstehen so Verbindungen der allgemeinen Formel I, die sich von C18:2-Fettsäuren ableiten, wie GLA, DGLA oder ARA enthaltende Verbindungen der Formel I oder, die sich von C18:3-Fettsäuren ableiten, wie SDA, ETA oder 10 EPA enthaltende Verbindungen der Formel I. Liegt in der für das Verfahren verwendeten Pflanze als ungesättigte Fettsäure nur Linolsäure (= LA, C18:2^{A9,12}) vor, so können als Produkte des Verfahrens nur GLA, DGLA und ARA entstehen, die als freie Fettsäuren oder gebunden vorliegen können. Ist in der im Verfahren

11

15 verwendeten Pflanze als ungesättigte Fettsäure nur α -Linolensäure (= ALA, C18:3 $^{\Delta 9,12,15}$) beispielsweise wie in Lein, so können als Produkte des Verfahrens nur SDA, ETA und EPA entstehen, die wie oben beschrieben als freie Fettsäuren oder gebunden vorliegen können. Durch Modifikation der Aktivität der an der Synthese

20 beteiligten Enzyme (Δ -5-, Δ -6-Desaturase und Δ -6-Elongase) bzw. durch Einbringen nur der ersten beiden Gene (Δ -6-Desaturase und Δ -6-Elongase) der Synthesekette lassen sich gezielt in den vorgenannten Pflanzen nur einzelne Produkte herstellten (siehe Figur I). Durch die Aktivität der Δ -6-Desaturase und Δ -6-Elongase

25 entstehen GLA und DGLA bzw. SDA und ETA, je nach Ausgangspflanze und ungesättigter Fettsäure. Bevorzugt entstehen DGLA bzw. ETA oder deren Mischungen. Wird die Δ -5-Desaturase zusätzlich in Pflanze eingebracht, so entstehen zusätzlich ARA oder EPA. Vorteilhaft werden nur ARA oder EPA oder deren Mischungen

30 synthetisiert, abhängig von der in der Pflanze vorliegenden Fettsäure, die als Ausgangssubstanz für die Synthese dient. Da es sich um Biosyntheseketten handelt, liegen die jeweiligen Endprodukte nicht als Reinsubstanzen in den Pflanzen vor. Es sind immer auch geringe Mengen der Vorläuferverbindungen im Endprodukt

35 enthalten. Diese geringen Mengen betragen weniger als 20 Gew.-*, vorteilhaft weniger als 15 Gew.-*, besonders vorteilhaft weniger als 10 Gew.-*, ganz besonders vorteilhaft weniger als 5, 4, 3, 2 oder 1 Gew.-* bezogen auf das Endprodukt DGLA, ETA oder deren Mischungen bzw. ARA, EPA oder deren Mischungen.

40

Im erfindungsgemäßen Verfahren werden sind unter transgenen Pflanzen auch Pflanzenzellen, -gewebe, -organe oder ganze Pflanzen zu verstehen, die zur Herstellung von Verbindungen der allgemeinen Formel I angezüchtet werden. Unter Anzucht ist beispielsweise die Kultivierung der transgenen Pflanzenzellen,

-gewebe oder -organe auf einem Nährmedium oder der ganzen Pflanze

auf bzw. in einem Substrat beispielsweise in Hydrokultur oder auf einem Ackerboden zu verstehen.

- Im erfindungsgemäßen Verfahren können prinzipiell alle
 5 Nukleinsäuren verwendet werden, die für Polypeptide mit Δ-5-, Δ-6-Desaturase- oder Δ-6-Elongaseaktivität codieren. Vorteilhaft Stammen diese Nukleinsäuren aus Pflanzen wie Algen wie Isochrysis oder Crypthecodinium, Diatomeen wie Phaeodactylum, Moose wie Physcomitrella, Ceratodon oder höheren Pflanzen
- 10 wie den Primulaceae wie Aleuritia, Calendula stellata, Osteospermum spinescens oder Osteospermum hyoseroides, Mikroorganismen wie Pilzen wie Aspergillus, Thraustochytrium, Phytophtora, Entomophthora, Mucor oder Mortierella, Hefen oder Tieren wie Nematoden wie Caenorhabditis, Insekten oder dem Mensch. Vorteilhaft
- 15 stammen die Δ -5-, Δ -6-Desaturase- oder Δ -6-Elongasegene aus Pilzen oder aus Pflanzen wie Algen oder Moosen, bevorzugt aus Pflanzen.
- Vorteilhaft wird im erfindungsgemäßen Verfahren eine Nuklein20 säuresequenz ausgewählt aus der Gruppe den in SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 oder 31 oder deren Derivat oder Homologe, die für Polypeptide codieren, die noch die enzymatische Aktivität besitzen. Diese Sequenzen werden einzeln oder in Kombination in Expressionskonstrukte cloniert, diese
- 25 Expressionskonstrukte sind in den Sequenzen SEQ ID NO: 33-37 wiedergegeben. Diese Expressionskonstrukte ermöglichen eine optimale Synthese der im erfindungsgemäßen Verfahren produzierten Verbindungen der allgemeinen Formel I.
- 30 Bei einer bevorzugten Ausführungsform umfasst das Verfahren ferner den Schritt des Gewinnens einer Zelle, die die im Verfahren verwendeten Nukleinsäuresequenzen, die für eine Δ -5- oder Δ -6-Desaturase und eine Δ -6-Elongase codieren, enthält, wobei eine Zelle mit den Nukleinsäuresequenz, einem Genkonstrukt oder
- 35 einem Vektor, welche die Expression der Δ-5-, Δ-6-Desaturaseoder Δ-6-Elongasenukleinsäure allein oder in Kombination herbeiführen, transformiert wird. Bei einer weiteren bevorzugten Ausführungsform umfasst dieses Verfahren ferner den Schritt des Gewinnens der Feinchemikalie aus der Kultur. Die so hergestellte
- **40** Zelle ist vorteilhaft eine Zelle einer Ölfruchtpflanze wie beispielsweise Erdnuss, Raps, Canola, Lein, Soja, Safflower, Hanf, Sonnenblumen oder Borretsch.
- Unter transger Pflanze im Sinne der Erfindung ist zu verstehen, 45 daß die im Verfahren verwendeten Nukleinsäuren nicht an ihrer natürlichen Stelle im Genom eines Organismus sind, dabei können die Nukleinsäuren homolog oder heterolog exprimiert werden.

Tansgen bedeutet aber auch, dass die erfindungsgemäßen Nukleinsäuren an ihrem natürlichen Platz im Genom eines Organismus sind, dass jedoch die Sequenz gegenüber der natürlichen Sequenz verändert wurde und/oder das die Regulationssequenzen, der natür-

13

5 lichen Sequenzen verändert wurden. Bevorzugt ist unter transgen die Expression der erfindungsgemäßen Nukleinsäuren an nicht natürlicher Stelle im Genom zu verstehen, das heißt eine homologe oder bevorzugt heterologe Expression der Nukleinsäuren liegt vor. Bevorzugte transgene Pflanzen sind die Ölfruchtpflanzen.

10 Transgene Pflanzen, die die im erfindungsgemäßen Verfahren synthetisierten Verbindungen der Formel I enthalten, können direkt vermarktet werden ohne die synthetisierten Verbindungen zu isolieren. Unter Pflanzen im erfindungsgemäßen Verfahren 15 sind alle Pflanzenteile, Pflanzenorgane wie Blatt, Stiel, Wurzel, Knollen oder Samen oder die gesamte Pflanze zu verstehen. Der Samen umfasst dabei alle Samenteile wie die Samenhüllen, Epidermis- und Samenzellen, Endosperm oder Embyrogewebe. Die im erfindungsgemäßen Verfahren hergestellten Verbindungen können 20 aber auch aus den Pflanzen in Form ihrer Öle, Fett, Lipide und/ oder freien Fettsäuren isoliert werden. Durch dieses Verfahren hergestellte Verbindungen der Formel I lassen sich durch Ernten der Organismen entweder aus der Kultur, in der sie wachsen, oder vom Feld ernten. Dies kann über Pressen oder Extraktion 25 der Pflanzenteile bevorzugt der Pflanzensamen erfolgen. Dabei können die Öle, Fette, Lipide und/oder freien Fettsäuren durch sogenanntes kalt schlagen oder kalt pressen ohne Zuführung von Wärme durch Pressen gewonnen werden. Damit sich die Pflanzenteile speziell die Samen leichter aufschließen lassen, werden sie vor-30 her zerkleinert, gedämpft oder geröstet. Die so vorbehandelten Samen können anschließend gepresst werden oder mit Lösungsmittel wie warmen Hexan extrahiert werden. Anschließend wird das Lösungsmittel wieder entfernt. Auf diese Weise können mehr als 96 % der im Verfahren hergestellten Verbindungen isoliert 35 werden. Anschließend werden die so erhaltenen Produkte weiter bearbeitet, das heißt raffiniert. Dabei werden zunächst die Pflanzenschleime und Trübstoffe. Die sogenannte Entschleimung kann enzymatisch oder beispielsweise chemisch/physikalisch durch Zugabe von Säure wie Phosphorsäure erfolgen. Anschließend werden

40 die freien Fettsäuren durch Behandlung mit einer Base beispielsweise Natronlauge entfernt. Das erhaltene Produkt wird zur Entfernung der im Produkt verbliebenen Lauge mit Wasser gründlich gewaschen und getrocknet. Um die noch im Produkt enthaltenen Farbstoffe zu entfernen werden die Produkte einer Bleichung mit 45 beispielsweise Bleicherde oder Aktivkohle unterzogen. Zum Schluss

14 wird das Produkt noch beispielsweise mit Wasserdampf noch desodoriert.

Vorzugsweise sind die durch dieses Verfahren produzierten PUFAs $5\ C_{18}$ - oder C_{20-22} -Fettsäuremoleküle mit mindestens zwei Doppelbindungen im Fettsäuremolekül, vorzugsweise drei, vier, bei Kombination mit einer weiteren Elongasen und einer $\Delta-4$ Desaturase fünf oder sechs Doppelbindungen. Diese C_{18} - oder C_{20-22} -Fettsäuremoleküle lassen sich aus dem Organismus in Form eines Öls, Lipids oder einer freien Fettsäure isolieren. Geeignete Organismen sind

10 oder einer freien Fettsäure isolieren. Geeignete Organismen sind beispielsweise die vorstehend erwähnten. Bevorzugte Organismen sind transgene Pflanzen.

Eine erfindungsgemäße Ausführungsform sind Öle, Lipide oder Fett15 säuren oder Fraktionen davon, die durch das oben beschriebene
Verfahren hergestellt worden sind, besonders bevorzugt Öl, Lipid
oder eine Fettsäurezusammensetzung, die PUFAs umfassen und von
transgenen Pflanzen herrühren.

20 Eine weitere erfindungsgemäße Ausführungsform ist die Verwendung des Öls, Lipids oder der Fettsäurezusammensetzung in Futtermitteln, Nahrungsmitteln, Kosmetika oder Pharmazeutika.

Unter dem Begriff "Öl" oder "Fett" wird ein Fettsäuregemisch 25 verstanden, das ungesättigte, gesättigte, vorzugsweise veresterte Fettsäure(n) enthält. Bevorzugt ist, dass das Öl oder Fett einen hohen Anteil an ungesättigter, unkonjugierter veresterter Fettsäure(n), insbesondere Linolsäure, γ-Linolensäure, Dihomo-γ-linolensäure, Arachidonsäure, α -Linolensäure, Stearidonsäure, Eicosa-30 tetraensäure oder Eicosapentaensäure hat. Vorzugsweise ist der Anteil an ungesättigten veresterten Fettsäuren ungefähr 30 %, mehr bevorzugt ist ein Anteil von 50 %, noch mehr bevorzugt ist ein Anteil von 60 %, 70 %, 80 % oder mehr. Zur Bestimmung kann z.B. der Anteil an Fettsäure nach Überführung der Fettsäuren in 35 die Methylestern durch Umesterung gaschromatographisch bestimmt werden. Das Öl oder Fett kann verschiedene andere gesättigte oder ungesättigte Fettsäuren, z.B. Calendulasäure, Palmitin-, Stearin-, Ölsäure etc., enthalten. Insbesondere kann je nach Ausgangspflanze der Anteil der verschiedenen Fettsäuren in dem Öl

Bei den im Verfahren hergestellten Verbindungen der Formel I, die mehrfach ungesättigte Fettsäuren mit mindestens zwei Doppelbindungen enthalten, handelt es sich um Sphingolipide, Phospho-45 glyceride, Lipide, Glycolipide, Phospholipide, Monoacylglycerin, Diacylglycerin, Triacylglycerin oder sonstige Fettsäureester.

40 oder Fett schwanken.

15

Aus den so im erfindungsgemäßen Verfahren hergestellten Verbindungen der allgemeinen Formel I lassen sich die enthaltenden mehrfach ungesättigten Fettsäuren beispielsweise über eine Alkalibehandlung beispielsweise wäßrige KOH oder NaOH oder saure 5 Hydrolyse vorteilhaft in Gegenwart eines Alkohols wie Methanol oder Ethanol oder über eine enzymatische Abspaltung freisetzen und isolieren über beispielsweise Phasentrennung und anschließender Ansäuerung über z.B. H₂SO₄. Die Freisetzung der Fettsäuren kann auch direkt ohne die vorhergehend beschriebene Aufarbeitung 10 erfolgen.

PCT/EP03/04297

Die im Verfahren verwendeten Nukleinsäuren können nach Einbringung in eine Pflanzenzelle bzw. Pflanze entweder auf einem separaten Plasmid liegen oder in das Genom der Wirtszelle inte-15 griert sein. Bei Integration in das Genom kann die Integration zufallsgemäß sein oder durch derartige Rekombination erfolgen, dass das native Gen durch die eingebrachte Kopie ersetzt wird, wodurch die Produktion der gewünschten Verbindung durch die Zelle moduliert wird, oder durch Verwendung eines Gens in trans, so 20 dass das Gen mit einer funktionellen Expressionseinheit, welche mindestens eine die Expression eines Gens gewährleistende Sequenz und mindestens eine die Polyadenylierung eines funktionell transkribierten Gens gewährleistende Sequenz enthält, funktionell verbunden ist. Vorteilhaft werden die Nukleinsäuren über Multi-25 expressionskassetten oder Konstrukte zur multiparallelen samenspezifischen Expression von Genen in die Pflanzen gebracht.

Moose und Algen sind die einzigen bekannten Pflanzensysteme, die erhebliche Mengen an mehrfach ungesättigten Fettsäuren, wie 30 Arachidonsäure (ARA) und/oder Eicosapentaensäure (EPA) und/oder Docosahexaensäure (DHA) herstellen. Moose enthalten PUFAs in Membranlipiden während Algen, algenverwandte Organismen und einige Pilze auch nennenswerte Mengen an PUFAs in der Triacylglycerolfraktion akkumulieren. Daher eignen sich Nukleinsäure-35 moleküle, die aus solchen Stämmen isoliert werden, die PUFAs auch in der Triacylglycerolfraktion akkumulieren, besonders vorteilhaft für das erfindungsgemäße Verfahren und damit zur Modifikation des Lipid- und PUFA-Produktionssystems in einem Wirt, insbesondere Pflanzen, wie Ölfruchtpflanzen, beispielsweise 40 Raps, Canola, Lein, Hanf, Soja, Sonnenblumen, Borretsch. Sie sind deshalb vorteilhaft im erfindungsgemäßen Verfahren verwendbar.

Die Herstellung einer Triensäure mit C_{18} -Kohlenstoffkette mithilfe von Desaturasen konnte bisher gezeigt werden. In diesen 45 literaturbekannten Verfahren wurde die Herstellung von γ -Linolensäure beansprucht. Bisher konnte jedoch niemand die Herstellung sehr langkettiger mehrfach ungesättigter Fettsäuren (mit C_{20} - und

längerer Kohlenstoffkette sowie von Triensäuren und höher ungesättigten Typen) allein durch modifizierte Pflanzen zeigen.

Zur Herstellung der erfindungsgemäßen langkettiger PUFAs müssen 5 die mehrfach ungesättigten C₁₈-Fettsäuren zunächst durch die enzymatische Aktivität einer Desaturase zunächst desaturiert und anschließend über eine Elongase um mindestens zwei Kohlenstoffatome verlängert werden. Nach einer Elongationsrunde führt diese Enzymaktivität zu C₂₀-Fettsäuren, und nach zwei oder drei

- 10 Elongationsrunden zu C_{22} oder C_{24} -Fettsäuren. Die Aktivität der erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten Desaturasen und Elongasen führt vorzugsweise zu C_{18} -, C_{20} und/oder C_{22} -Fettsäuren mit mindestens zwei Doppelbindungen im Fettsäuremolekül, vorzugsweise mit drei, vier oder fünf Doppelbindungen, besonders bevor-
- 15 zugt zu C_{18} und/oder C_{20} -Fettsäuren mit mindestens zwei Doppelbindungen im Fettsäuremolekül, vorzugsweise mit drei, vier oder fünf Doppelbindungen im Molekül. Nachdem eine erste Desaturierung und die die Verlängerung stattgefunden hat, können weitere Desaturierungsschritte wie z.B. eine solche in Δ -5-Position erfolgen.
- 20 Besonders bevorzugt als Produkte des erfindungsgemäßen Verfahrens sind Arachidonsäure und Eicosapentaensäure. Die C₁₈-Fettsäuren mit mindestens zwei Doppelbindungen in der Fettsäure können durch die erfindungsgemäße enzymatische Aktivität in Form der freien Fettsäure oder in Form der Ester, wie Phospholipide, Glycolipide,
- 25 Sphingolipide, Phosphoglyceride, Monoacylglycerin, Diacylglycerin oder Triacylglycerin, verlängert werden.

Unter der Verwendung von Klonierungsvektoren in Pflanzen und bei der Pflanzentransformation, wie denjenigen, die veröffent-

- 30 licht sind in und dort zitiert sind: Plant Molecular Biology and Biotechnology (CRC Press, Boca Raton, Florida), Kapitel 6/7, S. 71-119 (1993); F.F. White, Vectors for Gene Transfer in Higher Plants; in: Transgenic Plants, Bd. 1, Engineering and Utilization, Hrsgb.: Kung und R. Wu, Academic Press, 1993, 15-38;
- 35 B. Jenes et al., Techniques for Gene Transfer, in: Transgenic Plants, Bd. 1, Engineering and Utilization, Hrsgb.: Kung und R. Wu, Academic Press (1993), 128-143; Potrykus, Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Molec. Biol. 42 (1991), 205-225)), lassen sich die Nukleinsäuren zur gentechnologischen Veränderung eines
- 40 breiten Spektrums an Pflanzen verwenden, so dass diese ein besserer oder effizienterer Produzent eines oder mehrerer von Lipiden hergeleiteter Produkte, wie PUFAs, wird. Diese verbesserte Produktion oder Effizienz der Produktion eines von Lipiden hergeleiteten Produktes, wie PUFAs, kann durch direkte
- **45** Wirkung der Manipulation oder eine indirekte Wirkung dieser Manipulation hervorgerufen werden.

Es gibt eine Reihe von Mechanismen, durch die die Veränderung eines erfindungsgemäßen Desaturase-Proteins die Ausbeute, Produktion und/oder Effizienz der Produktion einer Feinchemikalie aus einer Ölfruchtpflanze oder einem Mikroorganismus aufgrund 5 eines veränderten Proteins direkt beeinflussen kann. Die Anzahl oder Aktivität des Desaturase-Proteins oder -Gens sowie von Genkombinationen von Desaturasen und Elongasen kann erhöht sein, so dass größere Mengen dieser Verbindungen de novo hergestellt werden, weil den Organismen diese Aktivität und Fähigkeit zur 10 Biosynthese vor dem Einbringen des entsprechenden Gens fehlte. Entsprechendes gilt für die Kombination mit weiteren Desaturasen oder Elongasen oder weiteren Enzymen aus dem Lipidstoffwechsel. Auch die Verwendung verschiedener divergenter, d.h. auf DNA-Sequenzebene unterschiedlicher Sequenzen kann dabei vorteilhaft 15 sein bzw. die Verwendung von Promotoren zur Genexpression, die eine andere zeitliche Genexpression z.B. abhängig vom Reifegrad eines Samens oder Öl-speichernden Gewebes ermöglicht.

Durch das Einbringen eines Desaturase- und/oder Elongase-Gens 20 oder mehrerer Desaturase- und Elongase-Gene in einen Organismus allein oder in Kombination mit anderen Genen in eine Zelle kann nicht nur den Biosynthesefluss zum Endprodukt erhöhen, sondern auch die entsprechende Triacylglycerin-Zusammensetzung erhöhen oder de novo schaffen. Ebenso kann die Anzahl oder Aktivität 25 anderer Gene, die am Import von Nährstoffen, die zur Biosynthese einer oder mehrerer Feinchemikalien (z.B. Fettsäuren, polaren und neutralen Lipiden) nötig sind, erhöht sein, so dass die Konzentration dieser Vorläufer, Cofaktoren oder Zwischenverbindungen innerhalb der Zellen oder innerhalb des Speicher-30 kompartiments erhöht ist, wodurch die Fähigkeit der Zellen zur Produktion von PUFAs, wie im folgenden beschrieben, weiter gesteigert wird. Fettsäuren und Lipide sind selbst als Feinchemikalien wünschenswert; durch Optimierung der Aktivität oder Erhöhung der Anzahl einer oder mehrerer Desaturasen und/oder 35 Elongasen, die an der Biosynthese dieser Verbindungen beteiligt sind, oder durch Zerstören der Aktivität einer oder mehrerer Desaturasen, die am Abbau dieser Verbindungen beteiligt sind, kann es möglich sein, die Ausbeute, Produktion und/oder Effizienz der Produktion von Fettsäure- und Lipidmolekülen aus Pflanzen zu 40 steigern.

Die im erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten isolierten Nukleinsäuremoleküle codieren für Proteine oder Teilen von diesen, wobei die Proteine oder das einzelne Protein oder Teilen 45 davon eine Aminosäuresequenz enthält, die ausreichend homolog zu einer Aminosäuresequenz der Sequenz SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 oder 32 ist, so dass

18

das Protein oder der Teil davon eine Desaturase- oder Elongase-Aktivität beibehält. Vorzugsweise hat das Protein oder der Teil davon, das/der von dem Nukleinsäuremolekül kodiert wird, seine wesentliche enzymatische Aktivität und die Fähigkeit, am Stoff-

- 5 wechsel von zum Aufbau von Zellmembranen von Pflanzen notwendigen Verbindungen oder am Transport von Molekülen über diese Membranen teilzunehmen. Vorteilhaft ist das von den Nukleinsäuremolekülen kodierte Protein zu mindestens etwa 50 %, vorzugsweise mindestens etwa 60 % und stärker bevorzugt mindestens etwa 70 %, 80 % oder
- 10 90 % und am stärksten bevorzugt mindestens etwa 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % oder mehr homolog zu einer Aminosäuresequenz der Sequenz SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 oder 32. Bevorzugt ist das Protein ein Volllängen-Protein, das im wesentlichen in Teilen homolog zu einer gesamten
- 15 Aminosäuresequenz der SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 oder 32 (die von dem in SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 oder 31 gezeigten offenen Leserahmen herrührt) ist. Im Sinne der Erfindung ist unter Homologie oder homolog, Identität oder identisch zu verzetehen.

Unter wesentlicher enzymatischer Aktivität der verwendeten Desaturasen und der Elongase ist zu verstehen, dass sie gegenüber den durch die Sequenzen mit SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15,

- 25 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 oder 31 codierten Proteinen/Enzymen im Vergleich noch mindestens eine enzymatische Aktivität von mindestens 10 %, bevorzugt 20 %, besonders bevorzugt 30 % und ganz besonders 40 % aufweisen und damit am Stoffwechsel von zum Aufbau von Fettsäuren in einer Pflanzenzelle notwendigen
- 30 Verbindungen oder am Transport von Molekülen über Membranen teilnehmen können, wobei desaturierte C_{18} oder C_{20-22} -Kohlenstoffketten mit Doppelbindungen an mindestens zwei, vorteilhaft drei, vier oder fünf Stellen gemeint ist.
- 35 Vorteilhaft im Verfahren verwendbare Nukleinsäuren stammen aus Pilzen oder Pflanzen wie Algen oder Moosen wie den Gattungen Physcomitrella, Thraustochytrium, Phytophtora, Ceratodon, Isochrysis, Aleurita, Muscarioides, Mortierella, Borago, Phaeodactylum, Crypthecodinium oder aus Nematoden wie Ceanorhabditis,
- 40 speziell aus den Gattungen und Arten Physcomitrella patens, Phytophtora infestans, Ceratodon purpureus, Isochrysis galbana, Aleurita farinosa, Muscarioides viallii, Mortierella alpina, Borago officinalis, Phaeodactylum tricormutum oder Ceanorhabditis elegans.

19

Alternativ können die verwendeten isolierten Nukleotidsequenzen für Desaturasen oder Elongasen codieren, die an eine Nukleotidsequenz der SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 oder 31 hybridisieren, z.B. unter stringenten 5 Bedingungen hybridisieren.

Die im Verfahren verwendeten Nukleinsäuresequenzen werden vorteilhaft in einer Expressionskassette, die die Expression der Nukleinsäuren in Pflanzen ermöglicht, eingebracht.

10 Vorteilhafte Expressionskassetten werden in SEQ ID NO: 33 bis 37 wiedergegeben. Dabei werden die für die Desaturasen und/oder die Elongasen codierenden Nukleinsäuresequenzen mit einem oder mehreren Regulationssignalen vorteilhafterweise zur Erhöhung 15 der Genexpression funktionell verknüpft. Diese regulatorischen Sequenzen sollen die gezielte Expression der Gene und der Proteinexpression ermöglichen. Dies kann beispielsweise je nach Wirtsorganismus bedeuten, dass das Gen erst nach Induktion exprimiert und/oder überexprimiert wird, oder dass es sofort 20 exprimiert und/oder überexprimiert wird. Beispielsweise handelt es sich bei diesen regulatorischen Sequenzen um Sequenzen an die Induktoren oder Repressoren binden und so die Expression der Nukleinsäure regulieren. Zusätzlich zu diesen neuen Regulationssequenzen oder anstelle dieser Sequenzen kann die natürliche 25 Regulation dieser Sequenzen vor den eigentlichen Strukturgenen noch vorhanden sein und gegebenenfalls genetisch verändert worden sein, so dass die natürliche Regulation ausgeschaltet und die Expression der Gene erhöht wurde. Die Expressionskassette (= Expressionskonstrukt = Genkonstrukt) kann aber auch ein-30 facher aufgebaut sein, das heißt es wurden keine zusätzlichen Regulationssignale vor die Nukleinsäuresequenz oder dessen Derivate inseriert und der natürliche Promotor mit seiner Regulation wurde nicht entfernt. Stattdessen wurde die natürliche Regulationssequenz so mutiert, dass keine Regulation mehr erfolgt 35 und/oder die Genexpression gesteigert wird. Diese veränderten Promotoren können in Form von Teilsequenzen (= Promotor mit Teilen der erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenzen) auch allein vor das natürliche Gen zur Steigerung der Aktivität gebracht werden. Das Genkonstrukt kann außerdem vorteilhafterweise auch 40 eine oder mehrere sogenannte "enhancer Sequenzen" funktionell verknüpft mit dem Promotor enthalten, die eine erhöhte Expression der Nukleinsäuresequenz ermöglichen. Auch am 3'-Ende der DNA-Sequenzen können zusätzliche vorteilhafte Sequenzen inseriert werden wie weitere regulatorische Elemente oder Terminatoren.

45 Die $\Delta 5$ -Desaturase- $/\Delta 6$ -Desaturase und/oder $\Delta 6$ -Elongase-Gene können in einer oder mehreren Kopien in der Expressionskassette (= Genkonstrukt) enthalten sein. Vorteilhaft liegt nur jeweils eine

Kopie der Gene in der Expressionskassette vor. Dieses Genkonstrukt oder die Genkonstrukte können zusammen im Wirtsorganismus exprimiert werden. Dabei kann das Genkonstrukt oder die Genkonstrukte in einem oder mehreren Vektoren inseriert sein und frei in der Zelle vorliegen oder aber im Genom inseriert sein. Es ist vorteilhaft für die Insertion weiterer Gene im Wirtsgenom, wenn die zu exprimierenden Gene zusammen in einem Genkonstrukt vorliegen.

PCT/EP03/04297

10 Die regulatorischen Sequenzen bzw. Faktoren können dabei wie oben beschrieben vorzugsweise die Genexpression der eingeführten Gene positiv beeinflussen und dadurch erhöhen. So kann eine Verstärkung der regulatorischen Elemente vorteilhafterweise auf der Transkriptionsebene erfolgen, indem starke Transkriptionssignale wie Promotoren und/oder "Enhancer" verwendet werden. Daneben ist aber auch eine Verstärkung der Translation möglich, indem beispielsweise die Stabilität der mRNA verbessert wird.

Eine weitere Ausführungsform der Erfindung sind ein oder mehrere 20 Genkonstrukte, die eine oder mehrere Sequenzen enthalten, die durch Seq ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 oder 31 definiert sind und gem. SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 oder 32 Polypeptide kodieren. Die genannten Desaturasen führen dabei eine Doppelbindung in Δ-5 oder Δ-6-Position ein, wobei das Substrat ein, zwei, drei oder vier Doppelbindungen aufweisen. Die Elongase (Δ-6-Elongase) besitzt eine Enzymaktivität, die eine Fettsäure um mindestens zwei Kohlenstoffatome verlängert. Gleiches gilt für ihre Homologen, Derivate oder Analoga, die funktionsfähig mit einem oder mehreren Regulationssignalen, vorteilhafterweise zur Steigerung der Genexpression, verbunden sind.

Vorteilhafte Regulationssequenzen für das neue Verfahren liegen beispielsweise in Promotoren vor, wie dem cos-, tac-, trp-, tet-, trp-tet-, lpp-, lac-, lpp-lac-, lacIq-, T7-, T5-, T3-, gal-, trc-, ara-, SP6-, λ-P_R- oder λ-P_L-Promotor und werden vorteilhafterweise in Gram-negativen Bakterien angewendet. Weitere vorteilhafte Regulationssequenzen liegen beispielsweise in den Gram-positiven Promotoren amy und SPO2, in den Hefe- oder Pilzpromotoren ADC1, MFα, AC, P-60, CYC1, GAPDH, TEF, rp28, ADH oder in den Pflanzen-promotoren CaMV/35S [Franck et al., Cell 21 (1980) 285-294], PRP1 [Ward et al., Plant. Mol. Biol. 22 (1993)], SSU, OCS, lib4, usp, STLS1, B33, nos oder im Ubiquitin- oder Phaseolin-Promotor vor. In diesem Zusammenhang vorteilhaft sind ebenfalls induzier-bare Promotoren, wie die in EP-A-0 388 186 (Benzylsulfonamid-induzierbar), Plant J. 2, 1992:397-404 (Gatz et al., Tetra-

cyclin-induzierbar), EP-A-0 335 528 (Abzisinsäure-induzierbar)

21

oder WO 93/21334 (Ethanol- oder Cyclohexenol-induzierbar) beschriebenen Promotoren. Weitere geeignete Pflanzenpromotoren sind der Promotor von cytosolischer FBPase oder der ST-LSI-Promotor der Kartoffel (Stockhaus et al., EMBO J. 8, 1989, 2445), der 5 Phosphoribosylpyrophosphatamidotransferase-Promotor aus Glycine max (Genbank-Zugangsnr. U87999) oder der in EP-A-O 249 676

max (Genbank-Zugangsnr. U87999) oder der in EP-A-O 249 676 beschriebene nodienspezifische Promotor. Besonders vorteilhafte Promotoren sind Promotoren, welche die Expression in Geweben ermöglichen, die an der Fettsäurebiosynthese beteiligt sind. Ganz

10 besonders vorteilhaft sind samenspezifische Promotoren, wie der ausführungsgemäße USP Promotor aber auch andere Promotoren wie der LeB4-, DC3, Phaseolin- oder Napin-Promotor. Weitere besonders vorteilhafte Promotoren sind samenspezifische Promotoren, die für monokotyle oder dikotyle Pflanzen verwendet werden können und

15 in US 5,608,152 (Napin-Promotor aus Raps), WO 98/45461 (Oleosin-Promotor aus Arobidopsis), US 5,504,200 (Phaseolin-Promotor aus Phaseolus vulgaris), WO 91/13980 (Bce4-Promotor aus Brassica), von Baeumlein et al., Plant J., 2, 2, 1992:233-239 (LeB4-Promotor aus einer Leguminose) beschrieben sind, wobei sich

20 diese Promotoren für Dikotyledonen eignen. Die folgenden Promotoren eignen sich beispielsweise für Monokotyledonen lpt-2oder lpt-1-Promotor aus Gerste (WO 95/15389 und WO 95/23230), Hordein-Promotor aus Gerste und andere, in WO 99/16890 beschriebene geeignete Promotoren.

25

Es ist im Prinzip möglich, alle natürlichen Promotoren mit ihren Regulationssequenzen, wie die oben genannten, für das neue Verfahren zu verwenden. Es ist ebenfalls möglich und vorteilhaft, zusätzlich oder alleine synthetische Promotoren zu verwenden, 30 besonders wenn sie eine Samen-spezifische Expression vermitteln, wie z.B. beschrieben in WO 99/16890.

Um einen besonders hohen Gehalt an PUFAs in transgenen Pflanzen zu erzielen, sollten die PUFA-Biosynthesegene vorteilhaft samen35 spezifisch in Ölsaaten exprimiert werden. Hierzu können Samenspezifische Promotoren verwendet werden, bzw. solche Promotoren die im Embryo und/oder im Endosperm aktiv sind. Samen-spezifische Promotoren können prinzipiell sowohl aus dikotolydonen als auch aus monokotolydonen Pflanzen isoliert werden. Im folgenden sind vorteilhafte bevorzugte Promotoren aufgeführt: USP (= unknown seed protein) und Vicilin (Vicia faba) [Bäumlein et al., Mol. Gen Genet., 1991, 225(3)], Napin (Raps) [US 5,608,152], Acyl-Carrier Protein (Raps) [US 5,315,001 und WO 92/18634], Oleosin (Arabidopsis thaliana) [WO 98/45461 und WO 93/20216], Phaseolin (Phaseolus vulgaris) [US 5,504,200], Bce4 [WO 91/13980], Leguminosen B4 (LegB4-Promotor) [Bäumlein et al., Plant J., 2,2,

1992], Lpt2 und lpt1(Gerste) [WO 95/15389 u. WO95/23230], Samen-

spezifische Promotoren aus Reis, Mais u. Weizen [WO 99/16890],
Amy32b, Amy 6-6 und Aleurain [US 5,677,474], Bce4 (Raps)
[US 5,530,149], Glycinin (Soja) [EP 571 741], PhosphoenolPyruvatcarboxylase (Soja) [JP 06/62870], ADR12-2 (Soja)
5 [WO 98/08962], Isocitratlyase (Raps) [US 5,689,040] oder
β-Amylase (Gerste) [EP 781 849].

22

Die Pflanzengenexpression lässt sich auch über einen chemisch induzierbaren Promotor erleichtern (siehe eine Übersicht in Gatz 1997, Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 48:89-108). Chemisch induzierbare Promotoren eignen sich besonders, wenn gewünscht wird, dass die Genexpression auf zeitspezifische Weise erfolgt. Beispiele für solche Promotoren sind ein Salicylsäureinduzierbarer Promotor (WO 95/19443), ein Tetracyclin-induzierbarer Promotor (Gatz et al. (1992) Plant J. 2, 397-404) und ein Ethanol-induzierbarer Promotor.

Um eine stabile Integration der Biosynthesegene in die transgene Pflanze über mehrere Generation sicherzustellen, sollte 20 jede der im Verfahren verwendeten Nukleinsäuren, die für die Δ -6-Desaturase, die Δ -5-Desaturase oder die Δ -6-Elongase codieren, unter der Kontrolle eines eigenen bevorzugt eines unterschiedlichen Promotors exprimiert werden, da sich wiederholende Sequenzmotive zu Instabilität der T-DNA bzw. zu Rekombinations-25 ereignissen früheren können. Die Expressionskassette ist dabei vorteilhaft so aufgebaut, dass einem Promotor eine geeignete Schnittstelle zur Insertion der zu expremierenden Nukleinsäure folgt vorteilhaft in einem Polylinker anschließend gegebenenfalls ein Terminator hinter dem Polylinker liegt. Diese Abfolge wieder-30 holt sich mehrfach bevorzugt drei-, vier- oder fünfmal, so dass bis zu fünf Gene in einem Konstrukt zusammengeführt werden und so zur Expression in die transgene Pflanze eingebracht werden können. Vorteilhaft wiederholt sich die Abfolge bis zu dreimal (siehe Sequenzprotokoll SEQ ID NO: 33 bis 37). Die Nukleinsäure-35 sequenzen werden zur Expression über die geeignete Schnittstelle beispielsweise im Polylinker hinter den Promotor inseriert. Vorteilhaft hat jede Nukleinsäuresequenz ihren eigenen Promotor und gegebenenfalls ihren eigenen Terminator. Es ist aber auch möglich mehrere Nukleinsäuresequenzen hinter einem Promotor und ggf. 40 vor einem Terminator zu inserieren. Dabei ist die Insertionsstelle bzw. die Abfolge der inserierten Nukleinsäuren in der Expressionskassette nicht von entscheidender Bedeutung, das heißt eine Nukleinsäuresequenz kann an erster oder letzter Stelle in der Kassette inseriert sein, ohne dass dadurch die Expression 45 wesentlich beeinflusst wird. Es können in der Expressionskassette vorteilhaft unterschiedliche Promotoren wie beispielsweise der

USP-, LegB4 oder DC3-Promotor und unterschiedliche Terminatoren

23

verwendet werden. Es ist aber auch möglich nur einen Promotortyp in der Kassette zu verwenden. Dies kann jedoch zu unerwünschten Rekombinationsereignissen führen.

5 Wie oben beschrieben sollte die Transkription der eingebrachten Gene vorteilhaft durch geeignete Terminatoren am 3'-Ende der eingebrachten Biosynthesegene (hinter dem Stoppcodon) abgebrochen werden. Verwendet werden kann hier z.B. der OCS1 Terminator. Wie auch für die Promotoren, so sollten hier für jedes Gen unterschiedliche Terminatorsequenzen verwendet werden.

Das Genkonstrukt kann, wie oben beschrieben, auch weitere Gene umfassen, die in die Organismen eingebracht werden sollen. Es ist möglich und vorteilhaft, in die Wirtsorganismen Regulationsgene, 15 wie Gene für Induktoren, Repressoren oder Enzyme, welche durch ihre Enzymaktivität in die Regulation eines oder mehrerer Gene

ihre Enzymaktivität in die Regulation eines oder mehrerer Gene eines Biosynthesewegs eingreifen, einzubringen und darin zu exprimieren. Diese Gene können heterologen oder homologen Ursprungs sein. Weiterhin können vorteilhaft im Nukleinsäure-20 konstrukt bzw. Genkonstrukt weitere Biosynthesegene des Fett-

20 konstrukt bzw. Genkonstrukt weitere Biosynthesegene des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels enthalten sein oder aber diese Gene können auf einem weiteren oder mehreren weiteren Nukleinsäurekonstrukten liegen. Vorteilhaft werden als Biosynthesegene des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels ein Gen ausgewählt aus

25 der Gruppe Acyl-CoA-Dehydrogenase(n), Acyl-ACP[= acyl carrier
 protein]-Desaturase(n), Acyl-ACP-Thioesterase(n), Fettsäure-Acyl Transferase(n), Fettsäure-Synthase(n), Fettsäure-Hydroxylase(n),
 Acetyl-Coenzym A-Carboxylase(n), Acyl-Coenzym A-Oxidase(n), Fett säure-Desaturase(n), Fettsäure-Acetylenasen, Lipoxygenasen, Tri-

30 acylglycerol-Lipasen, Allenoxid-Synthasen, Hydroperoxid-Lyasen oder Fettsäure-Elongase(n) oder deren Kombinationen verwendet.

Dabei können die vorgenannten Desaturasen in Kombination mit Elongasen und anderen Desaturasen in erfindungsgemäßen 35 Expressionskassetten kloniert werden und zur Transformation

von Pflanzen mithilfe von Agrobakterium eingesetzt werden.

Die regulatorischen Sequenzen bzw. Faktoren können dabei wie oben beschrieben vorzugsweise die Genexpression der eingeführten

- 40 Gene positiv beeinflussen und dadurch erhöhen. So kann eine Verstärkung der regulatorischen Elemente vorteilhafterweise auf der Transkriptionsebene erfolgen, indem starke Transkriptionssignale wie Promotoren und/oder "Enhancer" verwendet werden. Daneben ist aber auch eine Verstärkung der Translation möglich, indem
- 45 beispielsweise die Stabilität der mRNA verbessert wird. Die Expressionskassetten können prinzipiell direkt zum Einbringen

in die Pflanze verwendet werden oder aber in einen Vektoren eingebracht werden.

24

Diese vorteilhaften Vektoren, vorzugsweise Expressionsvektoren, 5 enthalten die im Verfahren verwendeten Nukleinsäure, die für Δ -5- oder Δ -6-Desaturen oder Δ -6-Elonagasen codieren, oder ein Nukleinsäurekonstrukt, die die verwendeten Nukleinsäure allein oder in Kombination mit weiteren Biosynthesegenen des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels. Wie hier verwendet, betrifft 10 der Begriff "Vektor" ein Nukleinsäuremolekül, das eine andere Nukleinsäure transportieren kann, an welche es gebunden ist. Ein Vektortyp ist ein "Plasmid", was für eine zirkuläre doppelsträngige DNA-Schleife steht, in die zusätzlichen DNA-Segmente ligiert werden können. Ein weiterer Vektortyp ist ein viraler 15 Vektor, wobei zusätzliche DNA-Segmente in das virale Genom ligiert werden können. Bestimmte Vektoren können in einer Wirtszelle, in die sie eingebracht worden sind, autonom replizieren (z.B. Bakterienvektoren mit bakteriellem Replikationsursprung). Andere Vektoren werden vorteilhaft beim Einbringen in die Wirts-20 zelle in das Genom einer Wirtszelle integriert und dadurch zusammen mit dem Wirtsgenom repliziert. Zudem können bestimmte Vektoren die Expression von Genen, mit denen sie funktionsfähig verbunden sind, steuern. Diese Vektoren werden hier als "Expressionsvektoren" bezeichnet. Gewöhnlich haben Expressions-25 vektoren, die für DNA-Rekombinationstechniken geeignet sind, die Form von Plasmiden. In der vorliegenden Beschreibung können "Plasmid" und "Vektor" austauschbar verwendet werden, da das Plasmid die am häufigsten verwendete Vektorform ist. Die Erfindung soll jedoch diese anderen Expressionsvektorformen, 30 wie virale Vektoren, die ähnliche Funktionen ausüben, umfassen. Ferner soll der Begriff Vektor auch andere Vektoren, die dem Fachmann bekannt sind, wie Phagen, Viren, wie SV40, CMV, TMV, Transposons, IS-Elemente, Phasmide, Phagemide, Cosmide, lineare oder zirkuläre DNA, umfassen.

Die im Verfahren vorteilhaft verwendeten rekombinanten Expressionsvektoren umfassen die die unten beschriebenen Nukleinsäuren oder das oben beschriebene Genkonstrukt in einer Form, die sich zur Expression der verwendeten Nukleinsäuren in einer Wirtszelle eignen, was bedeutet, dass die rekombinanten Expressionsvektoren eine oder mehrere Regulationssequenzen, ausgewählt auf der Basis der zur Expression zu verwendenden

35

Expressionsvektoren eine oder mehrere Regulationssequenzen, ausgewählt auf der Basis der zur Expression zu verwendenden Wirtszellen, die mit der zu exprimierenden Nukleinsäuresequenz funktionsfähig verbunden ist, umfasst. In einem rekombinanten

45 Expressionsvektor bedeutet "funktionsfähig verbunden", dass die Nukleotidsequenz von Interesse derart an die Regulationssequenz(en) gebunden ist, dass die Expression der Nukleotid-

sequenz möglich ist und sie aneinander gebunden sind, so dass beide Sequenzen die vorhergesagte, der Sequenz zugeschriebene Funktion erfüllen (z.B. in einem In-vitro-Transkriptions-/Translationssystem oder in einer Wirtszelle, wenn der Vektor in die 5 Wirtszelle eingebracht wird). Der Begriff "Regulationssequenz" soll Promotoren, Enhancer und andere Expressionskontrollelemente (z.B. Polyadenylierungssignale) umfassen. Diese Regulationssequenzen sind z.B. beschrieben in Goeddel: Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, 10 CA (1990), oder siehe: Gruber und Crosby, in: Methods in Plant Molecular Biology and Biotechnolgy, CRC Press, Boca Raton, Florida, Hrsgb.: Glick und Thompson, Kapitel 7, 89-108, einschließlich der Literaturstellen darin. Regulationssequenzen umfassen solche, welche die konstitutive Expression einer 15 Nukleotidsequenz in vielen Wirtszelltypen steuern, und solche, welche die direkte Expression der Nukleotidsequenz nur in bestimmten Wirtszellen unter bestimmten Bedingungen steuern. Der Fachmann weiß, dass die Gestaltung des Expressionsvektors von Faktoren, wie der Auswahl der zu transformierenden Wirts-20 zelle, dem Ausmaß der Expression des gewünschten Proteins usw., abhängen kann.

Die verwendeten rekombinanten Expressionsvektoren können zur Expression von Desaturasen und Elongasen in prokaryotischen oder 25 eukaryotischen Zellen gestaltet sein. Dies ist vorteilhaft, da häufig Zwischenschritte der Vektorkonstruktion der Einfachheithalber in Mikroorganismen durchgeführt werden. Beispielsweise können Desaturase- und/oder Elongase-Gene in bakteriellen Zellen, Insektenzellen (unter Verwendung von Baculovirus-Expressions-30 vektoren), Hefe- und anderen Pilzzellen (siehe Romanos, M.A., et al. (1992) "Foreign gene expression in yeast: a review", Yeast 8:423-488; van den Hondel, C.A.M.J.J., et al. (1991) "Heterologous gene expression in filamentous fungi", in: More Gene Manipulations in Fungi, J.W. Bennet & L.L. Lasure, Hrsgb., 35 S. 396-428: Academic Press: San Diego; und van den Hondel, C.A.M.J.J., & Punt, P.J. (1991) "Gene transfer systems and vector development for filamentous fungi, in: Applied Molecular Genetics of Fungi, Peberdy, J.F., et al., Hrsgb., S. 1-28, Cambridge University Press: Cambridge), Algen (Falciatore et al., 1999, 40 Marine Biotechnology.1, 3:239-251), Ciliaten der Typen: Holotrichia, Peritrichia, Spirotrichia, Suctoria, Tetrahymena, Paramecium, Colpidium, Glaucoma, Platyophrya, Potomacus, Desaturaseudocohnilembus, Euplotes, Engelmaniella und Stylonychia, insbesondere der Gattung Stylonychia lemnae, mit Vektoren nach einem 45 Transformationsverfahren, wie beschrieben in WO 98/01572, sowie bevorzugt in Zellen vielzelliger Pflanzen (siehe Schmidt, R. und

Willmitzer, L. (1988) "High efficiency Agrobacterium tumefaciens-

26

mediated transformation of Arabidopsis thaliana leaf and cotyledon explants" Plant Cell Rep.:583-586; Plant Molecular Biology and Biotechnology, C Press, Boca Raton, Florida, Kapitel 6/7, S.71-119 (1993); F.F. White, B. Jenes et al., Techniques for 5 Gene Transfer, in: Transgenic Plants, Bd. 1, Engineering and Utilization, Hrsgb.: Kung und R. Wu, Academic Press (1993), 128-43; Potrykus, Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Molec. Biol. 42 (1991), 205-225 (und darin zitierte Literaturstellen)) exprimiert werden. Geeignete Wirtszellen werden ferner erörtert in Goeddel, 10 Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA (1990). Der rekombinante Expressionsvektor kann alternativ, zum Beispiel unter Verwendung von T7-Promotor-Regulationssequenzen und T7-Polymerase, in vitro transkribiert und translatiert werden.

Die Expression von Proteinen in Prokaryoten erfolgt meist mit Vektoren, die konstitutive oder induzierbare Promotoren enthalten, welche die Expression von Fusions- oder nicht-Fusionsproteinen steuern. Typische Fusions-Expressionsvektoren sind

20 u.a. pGEX (Pharmacia Biotech Inc; Smith, D.B., und Johnson, K.S. (1988) Gene 67:31-40), pMAL (New England Biolabs, Beverly, MA) und pRIT5 (Pharmacia, Piscataway, NJ), bei denen Glutathion-S-Transferase (GST), Maltose E-bindendes Protein bzw. Protein A an das rekombinante Zielprotein fusioniert wird.

25

Beispiele für geeignete induzierbare nicht-Fusions-E. coli-Expressionsvektoren sind u.a. pTrc (Amann et al. (1988) Gene 69:301-315) und pET 11d (Studier et al., Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego,
Kalifornien (1990) 60-89). Die Zielgenexpression vom pTrc-Vektor beruht auf der Transkription durch Wirts-RNA-Polymerase von einem Hybrid-trp-lac-Fusionspromotor. Die Zielgenexpression aus dem pET 11d-Vektor beruht auf der Transkription von einem T7-gn10-lac-Fusions-Promotor, die von einer coexprimierten viralen RNA-Polymerase (T7 gn1) vermittelt wird. Diese virale Polymerase wird von den Wirtsstämmen BL21 (DE3) oder HMS174 (DE3) von einem residenten λ-Prophagen bereitgestellt, der ein T7 gn1-Gen unter

40 Andere in prokaryotischen Organismen geeignete Vektoren sind dem Fachmann bekannt, diese Vektoren sind beispielsweise in E. coli pLG338, pACYC184, die pBR-Reihe, wie pBR322, die pUC-Reihe, wie pUC18 oder pUC19, die M113mp-Reihe, pKC30, pRep4, pHS1, pHS2, pPLc236, pMBL24, pLG200, pUR290, pIN-III¹¹³-B1, λgt11 or pBdCI,

der Transkriptionskontrolle des lacUV 5-Promotors birgt.

45 in Streptomyces pIJ101, pIJ364, pIJ702 oder pIJ361, in Bacillus pUB110, pC194 oder pBD214, in Corynebacterium pSA77 oder pAJ667.

Bei einer weiteren Ausführungsform ist der Expressionsvektor ein Hefe-Expressionsvektor. Beispiele für Vektoren zur Expression in der Hefe S. cerevisiae umfassen pYeDesaturasec1 (Baldari et al. (1987) Embo J. 6:229-234), pMFa (Kurjan und Herskowitz (1982)

- 5 Cell 30:933-943), pJRY88 (Schultz et al. (1987) Gene 54:113-123) sowie pYES2 (Invitrogen Corporation, San Diego, CA). Vektoren und Verfahren zur Konstruktion von Vektoren, die sich zur Verwendung in anderen Pilzen, wie den filamentösen Pilzen, eignen, umfassen diejenigen, die eingehend beschrieben sind in: van den Hondel,
- 10 C.A.M.J.J., & Punt, P.J. (1991) "Gene transfer systems and vector development for filamentous fungi, in: Applied Molecular Genetics of fungi, J.F. Peberdy et al., Hrsgb., S. 1-28, Cambridge University Press: Cambridge, oder in: More Gene Manipulations in Fungi [J.W. Bennet & L.L. Lasure, Hrsgb., S. 396-428: Academic
- 15 Press: San Diego]. Weitere geeignete Hefevektoren sind beispielsweise pAG-1, YEp6, YEp13 oder pEMBLYe23.

Alternativ können die Desaturasen und/oder Elongasen in Insektenzellen unter Verwendung von Baculovirus-Expressionsvektoren 20 exprimiert werden. Baculovirus-Vektoren, die zur Expression von Proteinen in gezüchteten Insektenzellen (z.B. Sf9-Zellen) verfügbar sind, umfassen die pAc-Reihe (Smith et al. (1983) Mol. Cell Biol.. 3:2156-2165) und die pVL-Reihe (Lucklow und Summers (1989) Virology 170:31-39).

25 Die oben genannten Vektoren bieten nur einen kleinen Überblick über mögliche geeignete Vektoren. Weitere Plasmide sind dem Fachmann bekannt und sind zum Beispiel beschrieben in: Cloning Vectors (Hrsgb. Pouwels, P.H., et al., Elsevier, Amsterdam-

- 30 New York-Oxford, 1985, ISBN 0 444 904018). Weitere geeignete Expressionssysteme für prokaryotische und eukaryotische Zellen siehe in den Kapiteln 16 und 17 von Sambrook, J., Fritsch, E.F., und Maniatis, T., Molecular Cloning: A Laboratory Manual,
- 2. Auflage, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor 35 Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989.

Bei einer weiteren Ausführungsform können des Verfahrens können die Desaturasen und/oder Elongasen in einzelligen Pflanzenzellen (wie Algen), siehe Falciatore et al., 1999, Marine Biotechnology

- 40 1 (3):239-251 und darin zitierte Literaturangaben, und Pflanzenzellen aus höheren Pflanzen (z.B. Spermatophyten, wie Feldfrüchten) exprimiert werden. Beispiele für Pflanzen-Expressionsvektoren umfassen solche, die eingehend beschrieben sind in: Becker, D., Kemper, E., Schell, J., und Masterson, R. (1992)
- 45 "New plant binary vectors with selectable markers located proximal to the left border", Plant Mol. Biol. 20:1195-1197; und Bevan, M.W. (1984) "Binary Agrobacterium vectors for plant

transformation", Nucl. Acids Res. 12:8711-8721; Vectors for Gene Transfer in Higher Plants; in: Transgenic Plants, Bd. 1, Engineering and Utilization, Hrsgb.: Kung und R. Wu, Academic Press, 1993, S. 15-38.

28

Eine Pflanzen-Expressionskassette enthält vorzugsweise
Regulationssequenzen, welche die Genexpression in Pflanzenzellen steuern können und funktionsfähig verbunden sind, so dass
jede Sequenz ihre Funktion, wie Termination der Transkription,
10 erfüllen kann, beispielsweise Polyadenylierungssignale. Bevorzugte Polyadenylierungssignale sind diejenigen, die aus Agrobacterium tumefaciens-t-DNA stammen, wie das als Octopinsynthase
bekannte Gen 3 des Ti-Plasmids pTiACH5 (Gielen et al., EMBO
J. 3 (1984) 835ff.) oder funktionelle Äquivalente davon, aber
15 auch alle anderen in Pflanzen funktionell aktiven Terminatoren
sind geeignet.

Da die Pflanzengenexpression sehr oft nicht auf Transkriptionsebenen beschränkt ist, enthält eine Pflanzen-Expressionskassette 20 vorzugsweise andere funktionsfähig verbunden Sequenzen, wie Translationsenhancer, beispielsweise die Overdrive-Sequenz, welche die 5'-untranslatierte Leader-Sequenz aus Tabakmosaikvirus, die das Protein/RNA-Verhältnis erhöht, enthält (Gallie et al., 1987, Nucl. Acids Research 15:8693-8711).

Die Pflanzengenexpression muss wie oben beschrieben funktionsfähig mit einem geeigneten Promotor verbunden sein, der die Genexpression auf rechtzeitige, zell- oder gewebespezifische Weise durchführt. Nutzbare Promotoren sind konstitutive

- 30 Promotoren (Benfey et al., EMBO J. 8 (1989) 2195-2202), wie diejenigen, die von Pflanzenviren stammen, wie 35S CAMV (Franck et al., Cell 21 (1980) 285-294), 19S CaMV (siehe auch US 5352605 und WO 84/02913) oder Pflanzenpromotoren, wie der in US 4,962,028 beschriebene der kleinen Untereinheit der Rubisco.
- Andere bevorzugte Sequenzen für die Verwendung zur funktionsfähigen Verbindung in Pflanzengenexpressions-Kassetten sind Targeting-Sequenzen, die zur Steuerung des Genproduktes in sein entsprechendes Zellkompartiment notwendig sind (siehe eine Über-
- 40 sicht in Kermode, Crit. Rev. Plant Sci. 15, 4 (1996) 285-423 und darin zitierte Literaturstellen), beispielsweise in die Vakuole, den Zellkern, alle Arten von Plastiden, wie Amyloplasten, Chloroplasten, Chromoplasten, den extrazellulären Raum, die Mitochondrien, das Endoplasmatische Retikulum, Ölkörper,
- 45 Peroxisomen und andere Kompartimente von Pflanzenzellen.

29

Die Pflanzengenexpression lässt sich auch wie oben beschrieben über einen chemisch induzierbaren Promotor erleichtern (siehe eine Übersicht in Gatz 1997, Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 48:89-108). Chemisch induzierbare Promotoren eignen sich besonders, wenn gewünscht wird, dass die Genexpression auf zeitspezifische Weise erfolgt. Beispiele für solche Promotoren sind ein Salicylsäure-induzierbarer Promotor (WO 95/19443), ein Tetracyclin-induzierbarer Promotor (Gatz et al. (1992) Plant J. 2, 397-404) und ein Ethanol-induzierbarer Promotor.

10

Auch Promotoren, die auf biotische oder abiotische Stressbedingungen reagieren, sind geeignete Promotoren, beispielsweise der pathogeninduzierte PRP1-Gen-Promotor (Ward et al., Plant. Mol. Biol. 22 (1993) 361-366), der hitzeinduzierbare hsp80-15 Promotor aus Tomate (US 5,187,267), der kälteinduzierbare Alphaamylase-Promotor aus Kartoffel (WO 96/12814) oder der durch Wunden induzierbare pinII-Promotor (EP-A-O 375 091).

Es sind insbesondere solche Promotoren bevorzugt, welche die 20 Genexpression in Geweben und Organen herbeiführen, in denen die Lipid- und Ölbiosynthese stattfindet, in Samenzellen, wie den Zellen des Endosperms und des sich entwickelnden Embryos. Geeignete Promotoren sind der Napingen-Promotor aus Raps (US 5,608,152), der USP-Promotor aus Vicia faba (Baeumlein

- 25 et al., Mol Gen Genet, 1991, 225 (3):459-67), der Oleosin-Promotor aus Arabidopsis (WO 98/45461), der Phaseolin-Promotor aus Phaseolus vulgaris (US 5,504,200), der Bce4-Promotor aus Brassica (WO 91/13980) oder der Legumin-B4-Promotor (LeB4; Baeumlein et al., 1992, Plant Journal, 2 (2):233-9) sowie
- 30 Promotoren, welche die samenspezifische Expression in Monokotyledonen-Pflanzen, wie Mais, Gerste, Weizen, Roggen, Reis usw. herbeiführen. Geeignete beachtenswerte Promotoren sind der 1pt2oder 1pt1-Gen-Promotor aus Gerste (WO 95/15389 und WO 95/23230) oder die in WO 99/16890 beschriebenen (Promotoren aus dem
- 35 Gersten-Hordein-Gen, dem Reis-Glutelin-Gen, dem Reis-Oryzin-Gen, dem Reis-Prolamin-Gen, dem Weizen-Gliadin-Gen, Weizen-Glutelin-Gen, dem Mais-Zein-Gen, dem Hafer-Glutelin-Gen, dem Sorghum-Kasirin-Gen, dem Roggen-Secalin-Gen).
- 40 Insbesondere kann die multiparallele Expression der im Verfahren verwendeten Desaturasen und/Elongasen allein oder in Kombination mit anderen Desaturasen oder Elongasen gewünscht sein. Die Einführung solcher Expressionskassetten kann über eine simultane Transformation mehrerer einzelner Expressionskonstrukte erfolgen
- 45 oder bevorzugt durch Kombination mehrerer Expressionskassetten auf einem Konstrukt. Auch können mehrere Vektoren mit mit jeweils

mehreren Expressionskassetten transformiert und auf die Wirtszelle übertragen werden.

30

Ebenfalls besonders geeignet sind Promotoren, welche die
5 plastidenspezifische Expression herbeiführen, da Plastiden
das Kompartiment sind, in dem die Vorläufer sowie einige Endprodukte der Lipidbiosynthese synthetisiert werden. Geeignete
Promotoren, wie der virale RNA-Polymerase-Promotor, sind
beschrieben in WO 95/16783 und WO 97/06250, und der clpP10 Promotor aus Arabidopsis, beschrieben in WO 99/46394.

Vektor-DNA lässt sich in prokaryotische oder eukaryotische Zellen über herkömmliche Transformations- oder Transfektionstechniken einbringen. Die Begriffe "Transformation" und "Transfektion",

- 15 Konjugation und Transduktion, wie hier verwendet, sollen eine Vielzahl von im Stand der Technik bekannten Verfahren zum Einbringen fremder Nukleinsäure (z.B. DNA) in eine Wirtszelle, einschließlich Calciumphosphat- oder Calciumchlorid-Copräzipitation, DEAE-Dextran-vermittelte Transfektion, Lipofektion,
- 20 natürliche Kompetenz, chemisch vermittelter Transfer, Elektroporation oder Teilchenbeschuss, umfassen. Geeignete Verfahren zur Transformation oder Transfektion von Wirtszellen, einschließlich Pflanzenzellen, lassen sich finden in Sambrook et al. (Molecular Cloning: A Laboratory Manual., 2. Aufl., Cold Spring
- 25 Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989) und anderen Labor-Handbüchern, wie Methods in Molecular Biology, 1995, Bd. 44, Agrobacterium protocols, Hrsgb: Gartland und Davey, Humana Press, Totowa, New Jersey.

30

- Wirtszellen, die im Prinzip zum Aufnehmen der erfindungsgemäßen Nukleinsäure, des erfindungsgemäßen Genproduktes oder des erfindungsgemäßen Vektors geeignet sind, sind alle prokaryotischen oder eukaryotischen Organismen. Die vorteilhafterweise ver-
- 35 wendeten Wirtsorganismen sind Organismen, wie Bakterien, Pilze, Hefen oder Pflanzenzellen vorzugsweise Pflanzen oder Teile davon. Pilze, Hefen oder Pflanzen werden vorzugsweise verwendet, besonders bevorzugt Pflanzen, ganz besonders bevorzugt Pflanzen, wie Ölfruchtpflanzen, die große Mengen an Lipidverbindungen
- 40 enthalten, wie Raps, Nachtkerze, Hanf, Diestel, Erdnuss, Canola, Lein, Soja, Safflor, Sonnenblume, Borretsch, oder Pflanzen, wie Mais, Weizen, Roggen, Hafer, Triticale, Reis, Gerste, Baumwolle, Maniok, Pfeffer, Tagetes, Solanaceen-Pflanzen, wie Kartoffel, Tabak, Aubergine und Tomate, Vicia-Arten, Erbse, Alfalfa, Busch-
- **45** pflanzen (Kaffee, Kakao, Tee), Salix-Arten, Bäume (Ölplame, Kokosnuss) sowie ausdauernde Gräser und Futterfeldfrüchte. Besonders bevorzugte erfindungsgemäße Pflanzen sind Ölfrucht-

pflanzen, wie Soja, Erdnuß, Raps, Canola, Lein, Hanf, Nachtkerze, Sonnenblume, Safflor, Bäume (Ölpalme, Kokosnuß).

Im erfindungsgemäßen Verfahren werden vorteilhaft Nuklein-5 säuresequenzen verwendet, die für die Polypeptide mit einer Δ -6-Desaturaseaktivität, Δ -6-Elongaseaktivität oder Δ -5-Desaturaseaktivität codierenden, ausgewählt aus der Gruppe:

- a) einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 1,

 SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9,

 SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17,

 SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25,

 SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29 oder SEQ ID NO: 31 dargestellten Sequenz,
- b) Nukleinsäuresequenzen, die aufgrund des degenerierten genetischen Codes durch Rückübersetzung der in SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18,
 20 SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30 oder SEQ ID NO: 32 dargestellten Aminosäuresequenzen erhalten werden,
- Derivate der in SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, C) SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, 25 SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29 oder SEQ ID NO: 31 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit der in SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, 30 SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30 oder SEQ ID NO: 32 dargestellten Aminosäuresequenzen codieren und mindestens 50 % Homologie auf Aminosäureebene aufweisen, ohne daß die enzymatische Wirkung der 35 Polypeptide wesentlich reduziert ist.

Die oben genannte erfindungsgemäße Nukleinsäure stammt von Organismen, wie Tieren, Ciliaten, Pilzen, Pflanzen wie Algen 40 oder Dinoflagellaten, die PUFAs synthetisieren können.

Der Begriff "Nukleinsäure(molekül)", wie hier verwendet, umfasst zudem die am 3'- und am 5'-Ende des kodierenden Genbereichs gelegene untranslatierte Sequenz: mindestens 500, bevorzugt 200, 45 besonders bevorzugt 100 Nukleotide der Sequenz stromaufwärts des 5'-Endes des kodierenden Bereichs und mindestens 100, bevorzugt

50, besonders bevorzugt 20 Nukleotide der Sequenz stromabwärts

des 3'-Endes des kodierenden Genbereichs. Ein "isoliertes"
Nukleinsäuremolekül wird von anderen Nukleinsäuremolekülen abgetrennt, die in der natürlichen Quelle der Nukleinsäure vorliegen.
Eine "isolierte" Nukleinsäure hat vorzugsweise keine Sequenzen,
welche die Nukleinsäure in der genomischen DNA des Organismus,
aus dem die Nukleinsäure stammt, natürlicherweise flankieren
(z.B. Sequenzen, die sich an den 5'- und 3'-Enden der Nukleinsäure befinden). Bei verschiedenen Ausführungsformen kann das
isolierte Desaturase- oder Elongase-Nukleinsäuremolekül zum Beispiel weniger als etwa 5 kb, 4 kb, 3 kb, 2 kb, 1 kb, 0,5 kb oder
0,1 kb an Nukleotidsequenzen enthalten, die natürlicherweise das
Nukleinsäuremolekül in der genomischen DNA der Zelle, aus der die

15 Die im Verfahren verwendeten Nukleinsäuremoleküle, z.B. ein Nukleinsäuremolekül mit einer Nukleotidsequenz der SEQ ID NO:1 oder eines Teils davon, kann unter Verwendung molekularbiologischer Standardtechniken und der hier bereitgestellten Sequenzinformation isoliert werden. Auch kann mithilfe von Ver-

Nukleinsäure stammt flankieren.

- 20 gleichsalgorithmen beispielsweise eine homologe Sequenz oder homologe, konservierte Sequenzbereiche auf DNA oder Aminosäure-ebene identifiziert werden. Diese können als Hybridisierungssonde sowie Standard-Hybridisierungstechniken (wie z.B. beschrieben in Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual.
- 25 2. Aufl., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989) zur Isolierung weiterer im Verfahren nützlicher Nukleinsäuresequenzen verwendet werden. Überdies lässt sich ein Nukleinsäuremolekül, umfassend eine vollständige Sequenz der SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13,
- 30 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 oder 31 oder einen Teil davon, durch Polymerasekettenreaktion isolieren, wobei Oligonukleotidprimer, die auf der Basis dieser Sequenz oder von Teilen davon, verwendet werden (z.B. kann ein Nukleinsäuremolekül, umfassend die vollständigen Sequenz oder einen Teil davon, durch Poly-
- 35 merasekettenreaktion unter Verwendung von Oligonukleotidprimern isoliert werden, die auf der Basis dieser gleichen Sequenz erstellt worden sind). Zum Beispiel lässt sich mRNA aus Zellen isolieren (z.B. durch das Guanidiniumthiocyanat-Extraktionsverfahren von Chirgwin et al. (1979) Biochemistry 18:5294-5299)
- 40 und cDNA mittels Reverser Transkriptase (z.B. Moloney-MLV-Reverse-Transkriptase, erhältlich von Gibco/BRL, Bethesda, MD, oder AMV-Reverse-Transkriptase, erhältlich von Seikagaku America, Inc., St.Petersburg, FL) herstellen. Synthetische Oligonukleotidprimer zur Amplifizierung mittels Polymerasekettenreaktion lassen
- 45 sich auf der Basis einer der in SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 oder 31 sowie der in Figur 5a gezeigten Sequenzen oder mithilfe der in SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8,

- 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 oder 32 dargestellten Aminosäuresequenzen erstellen. Eine erfindungsgemäße Nukleinsäure kann unter Verwendung von cDNA oder alternativ von genomischer DNA als Matrize und geeigneten Oligonukleotidprimern gemäß
- 5 Standard-PCR-Amplifikationstechniken amplifiziert werden. Die so amplifizierte Nukleinsäure kann in einen geeigneten Vektor kloniert werden und mittels DNA-Sequenzanalyse charakterisiert werden. Oligonukleotide, die einer Desaturase-Nukleotidsequenz entsprechen, können durch Standard-Syntheseverfahren, beispiels-
- 10 weise mit einem automatischen DNA-Synthesegerät, hergestellt werden.

Homologe der verwendeten Desaturase- oder Elongase-Nukleinsäuresequenzen mit der Sequenz SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13,

- 15 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 oder 31 bedeutet beispielsweise allelische Varianten mit mindestens etwa 50 bis 60 %, vorzugsweise mindestens etwa 60 bis 70 %, stärker bevorzugt mindestens etwa 70 bis 80 %, 80 bis 90 % oder 90 bis 95 % und noch stärker bevorzugt mindestens etwa 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % oder
- 20 mehr Homologie zu einer in SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 oder 31 gezeigten Nukleotidsequenzen oder ihren Homologen, Derivaten oder Analoga oder Teilen davon. Weiterhin sind isolierte Nukleinsäuremoleküle einer Nukleotidsequenz, die an eine der in SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15,
- 25 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 oder 31 gezeigten Nukleotidsequenzen oder einen Teil davon hybridisieren, z.B. unter stringenten Bedingungen hybridisiert. Allelische Varianten umfassen insbesondere funktionelle Varianten, die sich durch Deletion, Insertion oder Substitution von Nukleotiden aus/in der in
- 30 SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 oder 31 dargestellten Sequenz erhalten lassen, wobei aber die Absicht ist, dass die Enzymaktivität der davon herrührenden synthetisierten Proteine für die Insertion eines oder mehrerer Gene vorteilhafterweise beibehalten wird. Proteine, die noch die
- 35 enzymatische Aktivität der Desaturase oder Elongase besitzen, das heißt deren Aktivität im wesentlichen nicht reduziert ist, bedeutet Proteine mit mindestens 10 %, vorzugsweise 20 %, besonders bevorzugt 30 %, ganz besonders bevorzugt 40 % der ursprünglichen Enzymaktivität, verglichen mit dem durch
- 40 SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 oder 32 kodierten Protein.

Homologen der SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 oder 31 bedeuten beispielsweise auch bakterielle,

45 Pilz- und Pflanzenhomologen, verkürzte Sequenzen, einzelsträngige DNA oder RNA der kodierenden und nicht-kodierenden DNA-Sequenz.

34

Homologen der SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 oder 31 bedeutet auch Derivate, wie beispielsweise Promotorvarianten. Die Promotoren stromaufwärts der angegebenen Nukleotidsequenzen können durch einen oder mehrere Nukleotidaustausche, durch Insertion(en) und/oder Deletion(en) modifiziert werden, ohne dass jedoch die Funktionalität oder Aktivität der Promotoren gestört wird. Es ist weiterhin möglich, dass die Aktivität der Promotoren durch Modifikation ihrer Sequenz erhöht ist oder dass sie vollständig durch aktivere Promotoren, sogar aus heterologen Organismen, ersetzt werden.

Die vorgenannten Nukleinsäuren und Proteinmoleküle mit Desaturase- oder Elongaseaktivität, die am Stoffwechsel von Lipiden und Fettsäuren, PUFA-Cofaktoren und Enzymen oder am Transport 15 lipophiler Verbindungen über Membranen beteiligt sind, werden im erfindungsgemäßen Verfahren zur Modulation der Produktion von Verbindungen der allgemeinen Formel I in transgenen Pflanzen, wie Mais, Weizen, Roggen, Hafer, Triticale, Reis, Gerste, Sojabohne, Erdnuss, Baumwolle, Linum Arten wie Öl- oder Faserlein, 20 Brassica-Arten, wie Raps, Canola und Rübsen, Pfeffer, Sonnenblume, Borretsch, Nachtkerze und Tagetes, Solanacaen-Pflanzen, wie Kartoffel, Tabak, Aubergine und Tomate, Vicia-Arten, Erbse, Maniok, Alfalfa, Buschpflanzen (Kaffee, Kakao, Tee), Salix-Arten, Bäume (Ölpalme, Kokosnuss) und ausdauernden Gräsern und Futter-25 feldfrüchten, entweder direkt (z.B. wenn die Überexpression oder Optimierung eines Fettsäurebiosynthese-Proteins einen direkten Einfluss auf die Ausbeute, Produktion und/oder Effizienz der Produktion der Fettsäure aus modifizierten Organismen hat) verwenden und/oder können eine indirekt Auswirkung haben, die 30 dennoch zu einer Steigerung der Ausbeute, Produktion und/oder Effizienz der Produktion einer gewünschten Verbindung oder einer Abnahme unerwünschter Verbindungen führt (z.B. wenn die Modulation des Stoffwechsels von Lipiden und Fettsäuren, Cofaktoren und Enzymen zu Veränderungen der Ausbeute, Produktion 35 und/oder Effizienz der Produktion oder der Zusammensetzung der gewünschten Verbindungen innerhalb der Zellen führt, was wiederum die Produktion einer oder mehrerer Fettsäuren beeinflussen kann).

Die Kombination verschiedener Vorläufermoleküle und Biosynthese-40 enzyme führt zur Herstellung verschiedener Fettsäuremoleküle, was eine entscheidende Auswirkung auf die Zusammensetzung der Lipide hat. Da mehrfach ungesättigte Fettsäuren (= PUFAs) nicht nur einfach in Triacylglycerin sondern auch in Membranlipide eingebaut werden.

Die Lipidsynthese lässt sich in zwei Abschnitte unterteilen: die Synthese von Fettsäuren und ihre Bindung an sn-Glycerin-3-Phosphat sowie die Addition oder Modifikation einer polaren Kopfgruppe. Übliche Lipide, die in Membranen verwendet werden, 5 umfassen Phospholipide, Glycolipide, Sphingolipide und Phosphoglyceride. Die Fettsäuresynthese beginnt mit der Umwandlung von Acetyl-CoA in Malonyl-CoA durch die Acetyl-CoA-Carboxylase oder in Acetyl-ACP durch die Acetyltransacylase. Nach einer Kondensationsreaktion bilden diese beiden Produktmoleküle 10 zusammen Acetoacetyl-ACP, das über eine Reihe von Kondensations-, Reduktions- und Dehydratisierungsreaktionen umgewandelt wird, so dass ein gesättigtes Fettsäuremolekül mit der gewünschten Kettenlänge erhalten wird. Die Produktion der ungesättigten Fettsäuren aus diesen Molekülen wird durch spezifische Desaturasen kata-15 lysiert, und zwar entweder aerob mittels molekularem Sauerstoff oder anaerob (bezüglich der Fettsäuresynthese in Mikroorganismen siehe F.C. Neidhardt et al. (1996) E. coli und Salmonella. ASM Press: Washington, D.C., S. 612-636 und darin enthaltene Literaturstellen; Lengeler et al. (Hrsgb.) (1999) Biology of 20 Procaryotes. Thieme: Stuttgart, New York, und die enthaltene Literaturstellen, sowie Magnuson, K., et al. (1993) Microbiological Reviews 57:522-542 und die enthaltenen Literaturstellen).

- 25 Vorläufer für die PUFA-Biosynthese sind beispielsweise Ölsäure, Linol- und Linolensäure. Diese C_{18} -Kohlenstoff-Fettsäuren müssen auf C20 und C22 verlängert werden, damit Fettsäuren vom Eicosaund Docosa-Kettentyp erhalten werden. Mithilfe der im Verfahren verwendeten Desaturasen wie der Δ -5- und Δ -6-Desaturase und der 30 Δ -6-Elongase können Arachidonsäure und Eicosapentaensäure sowie verschiedene andere langkettige PUFAs erhalten, extrahiert und für verschiedene Zwecke bei Nahrungsmittel-, Futter-, Kosmetikoder pharmazeutischen Anwendungen verwendet werden. Mit den genannten Enzymen können vorzugsweise C₁₈ + C₂₀ Fettsäuren mit 35 mindestens zwei, drei, vier oder fünf Doppelbindungen im Fettsäuremolekül, vorzugsweise zu C20-Fettsäuren mit vorteilhaft drei, vier oder fünf Doppelbindungen im Fettsäuremolekül hergestellt werden. Die Desaturierung kann vor oder nach Elongation der entsprechenden Fettsäure erfolgen. Daher führen die Produkte der 40 Desaturaseaktivitäten und der möglichen weiteren Desaturierung und Elongation zu bevorzugten PUFAs mit höherem Desaturierungsgrad, einschließlich einer weiteren Elongation von C20 zu C_{22} -Fettsäuren, zu Fettsäuren wie γ -Linolensäure, Dihomo- γ -linolensäure, Arachidonsäure, Stearidonsäure, Eicosatetraensäure oder
- 45 Eicosapentaensäure. Substrate im erfindungsgemäßen Verfahren sind zum Beispiel Linolsäure, γ -Linolensäure, α -Linolensäure, Dihomo- γ -linolensäure, Eicosatetraensäure oder Stearidonsäure. Bevorzugte

36

Substrate sind Linolsäure, γ-Linolensäure und/oder α-Linolensäure, dihomo-γ-linolensäure bzw. Arachidonsäure, Eicosatetraensäure oder Eicosapentaensäure. Die C₁₈-oder C₂₀-Fettsäuren mit mindestens zwei Doppelbindungen in der Fettsäure fallen im
5 erfindungsgemäßen Verfahren in Form der freien Fettsäure oder in Form ihrer Ester (siehe Formel I) beispielsweise in Form ihrer Glyceride an.

Unter dem Begriff "Glycerid" wird ein mit ein, zwei oder drei

10 Carbonsäureresten verestertes Glycerin verstanden (Mono-,
Di- oder Triglycerid). Unter "Glycerid" wird auch ein Gemisch
an verschiedenen Glyceriden verstanden. Das Glycerid oder das
Gylceridgemisch kann weitere Zusätze, z.B. freie Fettsäuren,
Antioxidantien, Proteine, Kohlenhydrate, Vitamine und/oder

15 andere Substanzen enthalten.

Unter einem "Glycerid" im Sinne des erfindungsgemäßen Verfahrens werden ferner vom Glycerin abgeleitete Derivate verstanden. Dazu zählen neben den oben beschriebenen Fettsäureglyceriden auch 20 Glycerophospholipide und Glyceroglycolipide. Bevorzugt seien hier die Glycerophospholipide wie Lecithin (Phosphatidylcholin), Cardiolipin, Phosphatidylglycerin, Phosphatidylserin und Alkylacylglycerophospholipide beispielhaft genannt.

- 25 Ferner müssen Fettsäuren anschließend an verschiedene Modifikationsorte transportiert und in das Triacylglycerin-Speicherlipid eingebaut werden. Ein weiterer wichtiger Schritt bei der Lipidsynthese ist der Transfer von Fettsäuren auf die polaren Kopfgruppen, beispielsweise durch Glycerin-Fettsäure-Acyltransferase (siehe Frentzen, 1998, Lipid, 100(4-5):161-166).
- Veröffentlichungen über die Pflanzen-Fettsäurebiosynthese, Desaturierung, den Lipidstoffwechsel und Membrantransport von fetthaltigen Verbindungen, die Betaoxidation, Fettsäure35 modifikation und Cofaktoren, Triacylglycerin-Speicherung und -Assemblierung einschließlich der Literaturstellen darin siehe in den folgenden Artikeln: Kinney, 1997, Genetic Engeneering, Hrsgb.: JK Setlow, 19:149-166; Ohlrogge und Browse, 1995, Plant Cell 7:957-970; Shanklin und Cahoon, 1998, Annu. Rev. Plant
- 40 Physiol. Plant Mol. Biol. 49:611-641; Voelker, 1996, Genetic Engeneering, Hrsgb.: JK Setlow, 18:111-13; Gerhardt, 1992, Prog. Lipid R. 31:397-417; Gühnemann-Schäfer & Kindl, 1995, Biochim. Biophys Acta 1256:181-186; Kunau et al., 1995, Prog. Lipid Res. 34:267-342; Stymne et al., 1993, in: Biochemistry and Molecular
- **45** Biology of Membrane and Storage Lipids of Plants, Hrsgb.: Murata und Somerville, Rockville, American Society of Plant

Physiologists, 150-158, Murphy & Ross 1998, Plant Journal. 13(1):1-16.

Die im Verfahren hergestellten PUFAs, umfassen eine Gruppe von 5 Molekülen, die höhere Tiere nicht mehr synthetisieren können und somit aufnehmen müssen oder die höhere Tiere nicht mehr ausreichend selbst herstellen können und somit zusätzlich aufnehmen müssen, obwohl sie leicht von anderen Organismen, wie Bakterien, synthetisiert werden, beispielsweise können Katzen Arachidonsäure 10 nicht mehr synthetisieren.

Der Begriff "Desaturase oder Elongase" oder "Desaturase- oder Elongase-Polypeptid" im Sinne der Erfindung umfasst Proteine, die an der Desaturierung und Elongierung von Fettsäuren teilnehmen,

- 15 sowie ihre Homologen, Derivaten oder Analoga. Die Begriffe Desaturase oder Elongase-Nukleinsäuresequenz(en) umfassen Nukleinsäuresequenzen, die eine Desaturase oder Elongase kodieren und bei denen ein Teil eine kodierende Region und ebenfalls entsprechende 5'- und 3'-untranslatierte Sequenzbereiche sein
- 20 können. Die Begriffe Produktion oder Produktivität sind im Fachgebiet bekannt und beinhalten die Konzentration des Fermentationsproduktes (Verbindungen der Formel I), das in einer bestimmten Zeitspanne und einem bestimmten Fermentationsvolumen gebildet wird (z.B. kg Produkt pro Stunde pro Liter). Der Begriff
- 25 Effizienz der Produktion umfasst die Zeit, die zur Erzielung einer bestimmten Produktionsmenge nötig ist (z.B. wie lange die Zelle zur Aufrichtung einer bestimmten Durchsatzrate einer Feinchemikalie benötigt). Der Begriff Ausbeute oder Produkt/Kohlenstoff-Ausbeute ist im Fachgebiet bekannt und umfasst die
- 30 Effizienz der Umwandlung der Kohlenstoffquelle in das Produkt (d.h. die Feinchemikalie). Dies wird gewöhnlich beispielsweise ausgedrückt als kg Produkt pro kg Kohlenstoffquelle. Durch Erhöhen der Ausbeute oder Produktion der Verbindung wird die Menge der gewonnenen Moleküle oder der geeigneten gewonnenen Moleküle
- 35 dieser Verbindung in einer bestimmten Kulturmenge über einen festgelegten Zeitraum erhöht. Die Begriffe Biosynthese oder Biosyntheseweg sind im Fachgebiet bekannt und umfassen die Synthese einer Verbindung, vorzugsweise einer organischen Verbindung, durch eine Zelle aus Zwischenverbindungen, beispielsweise in
- 40 einem Mehrschritt- und stark regulierten Prozess. Die Begriffe Abbau oder Abbauweg sind im Fachgebiet bekannt und umfassen die Spaltung einer Verbindung, vorzugsweise einer organischen Verbindung, durch eine Zelle in Abbauprodukte (allgemeiner gesagt, kleinere oder weniger komplexe Moleküle) beispielsweise in einem
- 45 Mehrschritt- und stark regulierten Prozess. Der Begriff Stoffwechsel ist im Fachgebiet bekannt und umfasst die Gesamtheit der biochemischen Reaktionen, die in einem Organismus stattfinden.

Der Stoffwechsel einer bestimmten Verbindung (z.B. der Stoffwechsel einer Fettsäure) umfasst dann die Gesamtheit der Biosynthese-, Modifikations- und Abbauwege dieser Verbindung in der Zelle, die diese Verbindung betreffen.

38

Bei einer weiteren Ausführungsform kodieren Derivate des erfindungsgemäßen Nukleinsäuremoleküls Proteine mit mindestens 50 %, vorteilhaft etwa 50 bis 60 %, vorzugsweise mindestens etwa 60 bis 70 % und stärker bevorzugt mindestens etwa 70 bis 80 %, 10 80 bis 90 %, 90 bis 95 % und am stärksten bevorzugt mindestens etwa 96 %, 97 %, 98 %, 99 % oder mehr Homologie (= Identität) zu einer vollständigen Aminosäuresequenz der SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 oder 32. Die Homologie

der Aminosäuresequenz kann über den gesamten Sequenzbereich mit

15 dem Programm PileUp (J. Mol. Evolution., 25, 351-360, 1987,
Higgins et al., CABIOS, 5, 1989:151-153) oder BESTFIT oder GAP
bestimmt (Henikoff, S. and Henikoff, J. G. (1992). Amino acid
substitution matrices from protein blocks. Proc. Natl. Acad. Sci.
USA 89: 10915-10919.)

Die Erfindung umfasst zudem Nukleinsäuremoleküle, die sich von einer der in SEQ ID NO: 1, 3, 5 oder 11 gezeigten Nukleotidsequenzen (und Teilen davon) aufgrund des degenerierten genetischen Codes unterscheiden und somit die gleiche Desaturase kodieren wie diejenige, die von den in SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 oder 31 gezeigten Nukleotidsequenzen kodiert wird.

Zusätzlich zu den in SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 oder 31 gezeigten Desaturase-Nukleotidsequenzen erkennt der Fachmann, dass DNA-Sequenzpolymorphismen, die zu Änderungen in den Aminosäuresequenzen der Desaturasen oder Elongasen führen, innerhalb einer Population existieren können. Diese genetischen Polymorphismen im Desaturase- oder Elongase-Gen können zwischen Individuen innerhalb einer Population aufgrund von natürlicher Variation existieren. Diese natürlichen Varianten bewirken üblicherweise eine Varianz von 1 bis 5 % in der Nukleotidsequenz des Desaturase- oder Elongase-Gens. Sämtliche und alle dieser Nukleotidvariationen und daraus resultierende Aminosäure-40 polymorphismen in der Desaturase oder Elongase, die das Ergebnis natürlicher Variation sind und die funktionelle Aktivität von Desaturasen oder Elongasen nicht verändern, sollen im Umfang der Erfindung enthalten sein.

45 Für das erfindungsgemäße Verfahren vorteilhafte Nukleinsäuremoleküle können auf der Grundlage ihrer Homologie zu den hier offenbarten Desaturase- oder Elongase-Nukleinsäuren unter Verwendung der Sequenzen oder eines Teils davon als Hybridisierungssonde gemäß Standard-Hybridisierungstechniken unter stringenten Hybridisierungsbedingungen isoliert werden. Dabei können beispielsweise isolierte Nukleinsäuremoleküle verwendet werden, die mindestens

- 5 15 Nukleotide lang sind und unter stringenten Bedingungen mit dem Nukleinsäuremolekülen, die eine Nukleotidsequenz der SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 oder 31 umfassen, hybridisieren. Es können auch Nukleinsäuren mindestens 25, 50, 100, 250 oder mehr Nukleotide verwendet
- 10 werden. Der Begriff "hybridisiert unter stringenten Bedingungen", wie hier verwendet, soll Hybridisierungs- und Waschbedingungen beschreiben, unter denen Nukleotidsequenzen, die mindestens 60 % homolog zueinander sind, gewöhnlich aneinander hybridisiert bleiben. Die Bedingungen sind vorzugsweise derart, dass Sequenzen,
- 15 die mindestens etwa 65 %, stärker bevorzugt mindestens etwa 70 % und noch stärker bevorzugt mindestens etwa 75 % oder stärker zueinander homolog sind, gewöhnlich aneinander hybridisiert bleiben. Diese stringenten Bedingungen sind dem Fachmann bekannt und lassen sich in Current Protocols in Molecular Biology, John
- 20 Wiley & Sons, N. Y. (1989), 6.3.1-6.3.6., finden. Ein bevorzugtes, nicht einschränkendes Beispiel für stringente Hybridisierungsbedingungen sind Hybridisierungen in 6 x Natriumchlorid/Natriumcitrat (sodium chloride/sodiumcitrate = SSC) bei etwa 45°C, gefolgt von einem oder mehreren Waschschritten in 0,2 x SSC,
- 25 0,1 % SDS bei 50 bis 65°C. Dem Fachmann ist bekannt, dass diese Hybridisierungsbedingungen sich je nach dem Typ der Nukleinsäure und, wenn beispielsweise organische Lösungsmittel vorliegen, hinsichtlich der Temperatur und der Konzentration des Puffers unterscheiden. Die Temperatur unterscheidet sich beispielsweise
- 30 unter "Standard-Hybridisierungsbedingungen" je nach dem Typ der Nukleinsäure zwischen 42°C und 58°C in wässrigem Puffer mit einer Konzentration von 0,1 bis 5 x SSC (pH 7,2). Falls organisches Lösungsmittel im obengenannten Puffer vorliegt, zum Beispiel 50 % Formamid, ist die Temperatur unter Standardbedingungen etwa 42°C.
- 35 Vorzugsweise sind die Hybridisierungsbedingungen für DNA:DNA-Hybride zum Beispiel 0,1 x SSC und 20°C bis 45°C, vorzugsweise zwischen 30°C und 45°C. Vorzugsweise sind die Hybridisierungsbedingungen für DNA:RNA-Hybride zum Beispiel 0,1 x SSC und 30°C bis 55°C, vorzugsweise zwischen 45°C und 55°C. Die vorstehend
- 40 genannten Hybridisierungstemperaturen sind beispielsweise für eine Nukleinsäure mit etwa 100 bp (= Basenpaare) Länge und einem G + C-Gehalt von 50 % in Abwesenheit von Formamid bestimmt. Der Fachmann weiß, wie die erforderlichen Hybridisierungsbedingungen anhand von Lehrbüchern, wie dem vorstehend erwähnten oder aus den
- 45 folgenden Lehrbüchern Sambrook et al., "Molecular Cloning", Cold Spring Harbor Laboratory, 1989; Hames und Higgins (Hrsgb.) 1985, "Nucleic Acids Hybridization: A Practical Approach", IRL Press at

Oxford University Press, Oxford; Brown (Hrsgb.) 1991, "Essential Molecular Biology: 'A Practical Approach", IRL Press at Oxford University Press, Oxford, bestimmt werden können.

5 Zur Bestimmung der prozentualen Homologie (= Identität) von zwei Aminosäuresequenzen (z.B. einer der Sequenzen der SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 oder 32) oder von zwei Nukleinsäuren (z.B. einer der Sequenzen der SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 10 oder 31) werden die Sequenzen zum Zweck des optimalen Vergleichs untereinander geschrieben (z.B. können Lücken in die Sequenz eines Proteins oder einer Nukleinsäure eingefügt werden, um ein optimales Alignment mit dem anderen Protein oder der anderen Nukleinsäure zu erzeugen). Die Aminosäurereste oder Nukleotide an 15 den entsprechenden Aminosäurepositionen oder Nukleotidpositionen werden dann verglichen. Wenn eine Position in einer Sequenz durch den gleichen Aminosäurerest oder das gleiche Nukleotid wie die entsprechende Stelle in der anderen Sequenz belegt wird, dann sind die Moleküle an dieser Position homolog (d.h. Aminosäure-20 oder Nukleinsäure-"Homologie", wie hier verwendet, entspricht Aminosäure- oder Nukleinsäure-"Identität"). Die prozentuale Homologie zwischen den beiden Sequenzen ist eine Funktion der Anzahl an identischen Positionen, die den Sequenzen gemeinsam sind (d.h. % Homologie = Anzahl der identischen Positionen/Gesamtanzahl der 25 Positionen x 100). Die Begriffe Homologie und Identität sind damit als Synonym anzusehen.

Ein isoliertes Nukleinsäuremolekül, das eine Desaturase oder Elongase kodiert, die zu einer Proteinsequenz der SEQ ID NO: 2, 30 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30 oder 32 homolog ist, kann durch Einbringen einer oder mehrerer Nukleotidsubstitutionen, -additionen oder -deletionen in eine Nukleotidsequenz der SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 oder 31 erzeugt werden, so dass eine oder mehrere 35 Aminosäuresubstitutionen, -additionen oder -deletionen in das kodierte Protein eingebracht werden. Mutationen können in eine der Sequenzen der SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 oder 31 durch Standardtechniken, wie stellenspezifische Mutagenese und PCR-vermittelte Mutagenese, ein-40 gebracht werden. Vorzugsweise werden konservative Aminosäuresubstitutionen an einer oder mehreren der vorhergesagten nichtessentiellen Aminosäureresten hergestellt. Bei einer "konservativen Aminosäuresubstitution" wird der Aminosäurerest gegen einen Aminosäurerest mit einer ähnlichen Seitenkette ausge-45 tauscht. Im Fachgebiet sind Familien von Aminosäureresten mit

ähnlichen Seitenketten definiert worden. Diese Familien umfassen Aminosäuren mit basischen Seitenketten (z.B. Lysin, Arginin,

Histidin), sauren Seitenketten (z.B. Asparaginsäure, Glutaminsäure), ungeladenen polaren Seitenketten (z.B. Glycin, Asparagin, Glutamin, Serin, Threonin, Tyrosin, Cystein), unpolaren Seitenketten, (z.B. Alanin, Valin, Leucin, Isoleucin, Prolin, Phenyl-5 alanin, Methionin, Tryptophan), beta-verzweigten Seitenketten (z.B. Threonin, Valin, Isoleucin) und aromatischen Seitenketten (z.B. Tyrosin, Phenylalanin, Tryptophan, Histidin). Ein vorhergesagter nicht-essentieller Aminosäurerest in einer Desaturase oder Elongase wird somit vorzugsweise durch einen anderen Amino-10 säurerest aus der gleichen Seitenkettenfamilie ausgetauscht. Alternativ können bei einer anderen Ausführungsform die Mutationen zufallsgemäß über die gesamte oder einen Teil der Desaturase-kodierenden Sequenz eingebracht werden, z.B. durch Sättigungsmutagenese, und die resultierenden Mutanten können 15 nach der hier beschriebenen Desaturase-Aktivität durchmustert werden, um Mutanten zu identifizieren, die Desaturase- oder Elongase-Aktivität beibehalten. Nach der Mutagenese einer der Sequenzen der SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 oder 31 kann das kodierte Protein rekombinant 20 exprimiert werden, und die Aktivität des Proteins kann z.B. unter Verwendung der hier beschriebenen Tests bestimmt werden.

Diese Erfindung wird durch die nachstehenden Beispiele weiter veranschaulicht, die nicht als beschränkend aufgefaßt werden 25 sollten. Der Inhalt sämtlicher in dieser Patentanmeldung zitierten Literaturstellen, Patentanmeldungen, Patente und veröffentlichten Patentanmeldungen ist hier durch Bezugnahme aufgenommen.

30 Beispielteil

Beispiel 1: Allgemeine Verfahren

a) Allgemeine Klonierungsverfahren:

Klonierungsverfahren, wie beispielsweise Restriktionsspaltungen, Agarosegelelektrophorese, Reinigung von DNA-Fragmenten, Transfer von Nukleinsäuren auf Nitrocellulose- und Nylonmembranen, Verbindung von DNA-Fragmenten, Transformation von Escherichia coli- und Hefe-Zellen, Anzucht von Bakterien und Sequenzanalyse rekombinanter DNA, wurden durchgeführt wie beschrieben in Sambrook et al. (1989) (Cold Spring Harbor Laboratory Press: ISBN 0-87969-309-6) oder Kaiser, Michaelis und Mitchell (1994) "Methods in Yeast Genetics" (Cold Spring Harbor Laboratory Press: ISBN 0-87969-451-3).

b) Chemikalien

Die verwendeten Chemikalien wurden, wenn im Text nicht anders angegeben, in p. A.-Qualität von den Firmen Fluka (Neu-Ulm),

5 Merck (Darmstadt), Roth (Karlsruhe), Serva (Heidelberg) und Sigma (Deisenhofen) bezogen. Lösungen wurden unter Verwendung von reinem pyrogenfreiem Wasser, im nachstehenden Text als H₂O bezeichnet, aus einer Milli-Q-Wassersystem-Wasserreinigungs-anlage (Millipore, Eschborn) hergestellt. Restriktionsendo
10 nukleasen, DNA-modifizierende Enzyme und molekularbiologische Kits wurden bezogen von den Firmen AGS (Heidelberg), Amersham (Braunschweig), Biometra (Göttingen), Boehringer (Mannheim), Genomed (Bad Oeynhausen), New England Biolabs (Schwalbach/Taunus), Novagen (Madison, Wisconsin, USA), Perkin-Elmer

15 (Weiterstadt), Pharmacia (Freiburg), Qiagen (Hilden) und Stratagene (Amsterdam, Niederlande). Wenn nicht anders angegeben, wurden sie nach den Anweisungen des Herstellers ver-

20 Beispiel 2: Isolierung von Gesamt-RNA und poly(A)+-RNA aus Pflanzen

Die Isolierung von Gesamt-RNA aus Pflanzen wie Lein und Raps etc. erfolgt nach einer bei Logemann et al beschriebenen

25 Methode (1987, Anal. Biochem. 163, 21) isoliert. Aus Moos kann die Gesamt-RNA Protonema-Gewebe nach dem GTC-Verfahren (Reski et al., 1994, Mol. Gen. Genet., 244:352-359) gewonnen werden.

Beispiel 3: Transformation von Agrobacterium

30

wendet.

Die Agrobacterium-vermittelte Pflanzentransformation kann zum Beispiel unter Verwendung des GV3101- (pMP90-) (Koncz und Schell, Mol. Gen. Genet. 204 (1986) 383-396) oder LBA4404- (Clontech) oder C58C1 pGV2260 (Deblaere et al 1984, Nucl. Acids Res. 13,

35 4777-4788) Agrobacterium tumefaciens-Stamms durchgeführt werden. Die Transformation kann durch Standard-Transformationstechniken durchgeführt werden (ebenfalls Deblaere et al. 1984).

Beispiel 4: Pflanzentransformation

40

Die Agrobacterium-vermittelte Pflanzentransformation kann unter Verwendung von Standard-Transformations- und Regenerationstechniken durchgeführt werden (Gelvin, Stanton B., Schilperoort, Robert A., Plant Molecular Biology Manual, 2. Aufl., Dordrecht:

45 Kluwer Academic Publ., 1995, in Sect., Ringbuc Zentrale Signatur: BT11-P ISBN 0-7923-2731-4; Glick, Bernard R., Thompson, John E.,

Methods in Plant Molecular Biology and Biotechnology, Boca Raton: CRC Press, 1993, 360 S., ISBN 0-8493-5164-2).

Beispielsweise kann Raps mittels Kotyledonen- oder Hypokotyl5 transformation transformiert werden (Moloney et al., Plant
Cell 8 (1989) 238-242; De Block et al., Plant Physiol. 91 (1989)
694-701). Die Verwendung von Antibiotika für die Agrobacteriumund Pflanzenselektion hängt von dem für die Transformation
verwendeten binären Vektor und Agrobacterium-Stamm ab. Die
10 Rapsselektion wird gewöhnlich unter Verwendung von Kanamycin
als selektierbarem Pflanzenmarker durchgeführt.

Der Agrobacterium-vermittelte Gentransfer in Lein (Linum usitatissimum) lässt sich unter Verwendung von beispielsweise 15 einer von Mlynarova et al. (1994) Plant Cell Report 13:282-285 beschriebenen Technik durchführen.

Die Transformation von Soja kann unter Verwendung von beispielsweise einer in EP-A-O 0424 047 (Pioneer Hi-Bred International) oder in EP-A-O 0397 687, US 5,376,543, US 5,169,770 (University Toledo) beschriebenen Technik durchgeführt werden.

Die Pflanzentransformation unter Verwendung von Teilchenbeschuss, Polyethylenglycol-vermittelter DNA-Aufnahme oder über die Siliziumcarbonatfaser-Technik ist beispielsweise bes chrieben von Freeling und Walbot "The maize handbook" (1993) ISBN 3-540-97826-7, Springer Verlag New York).

Beispiel 5: Plasmide für die Pflanzentransformation

- 30 Zur Pflanzentransformation können binäre Vektoren, wie pBinAR (Höfgen und Willmitzer, Plant Science 66 (1990) 221-230) oder pGPTV (Becker et al 1992, Plant Mol. Biol. 20:1195-1197) verwendet werden. Die Konstruktion der binären Vektoren kann durch Ligation der cDNA in Sense- oder Antisense-Orientierung in
- 35 T-DNA erfolgen. 5' der cDNA aktiviert ein Pflanzenpromotor die Transkription der cDNA. Eine Polyadenylierungssequenz befindet sich 3' von der cDNA. Die binären Vektoren können unterschiedliche Markergene tragen. Insbesondere kann das nptII-Markergen codierend für Kanamycin-Resistenz vermittelt durch Neomycin-
- 40 phosphotransferase gegen die herbizidresistente Form eines Acetolactat Synthasegens (AHAS oder ALS) ausgetauscht werden. Das ALS-Gen ist beschrieben in Ott et al., J. Mol. Biol. 1996, 263:359-360. Der v-ATPase-cl-Promotor kann in das Plasmid pBinl9 oder pGPTV kloniert werden und durch Klonierung vor das ALS
- 45 Codierregion für die Markergenexpression genutzt werden. Der genannte Promotor entspricht einem 1153 Basenpaarfragment aus beta-Vulgaris (Plant Mol Biol, 1999, 39:463-475). Dabei können

44

sowohl Sulphonylharnstoffe als auch Imidazolinone wie Imazethapyr oder Sulphonylharnstoffe als Antimetaboliten zur Selektion verwendet werden.

- 5 Die gewebespezifische Expression lässt sich unter Verwendung eines gewebespezifischen Promotors erzielen. Beispielsweise kann die samenspezifische Expression erreicht werden, indem der DC3-oder der LeB4- oder der USP-Promotor oder der Phaseolin-Promotor 5' der cDNA einkloniert wird. Auch jedes andere samenspezifische 10 Promotorelement wie z.B. der Napin- oder Arcelin Promotor
- Goossens et al. 1999, Plant Phys. 120(4):1095-1103 und Gerhardt et al. 2000, Biochimica et Biophysica Acta 1490(1-2):87-98) kann verwendet werden. Zur konstitutiven Expression in der ganzen Pflanzen lässt sich der CaMV-35S-Promotor oder ein v-ATPase Cl 15 Promotor verwenden.

Insbesondere lassen sich Gene codierend für Desaturasen und Elongasen durch Konstruktion mehrerer Expressionskassetten hintereinander in einen binären Vektor klonieren, um den Stoffwechselweg in Pflanzen nachzubilden.

Innerhalb einer Expressionskassette kann das zu exprimierende Protein unter Verwendung eines Signalpeptids, beispielsweise für Plastiden, Mitochondrien oder das Endoplasmatische Retikulum, in 25 ein zelluläres Kompartiment dirigiert werden (Kermode, Crit. Rev. Plant Sci. 15, 4 (1996) 285-423). Das Signalpeptid wird 5' im Leseraster mit der cDNA einkloniert, um die subzelluläre Lokalisierung des Fusionsprotein zu erreichen.

30 Beispiele für Multiexpressionskassetten sind im folgenden gegeben.

I.) Promotor-Terminator-Kassetten

- 35 Expressionskassetten bestehen aus wenigstens zwei funktionellen Einheiten wie einem Promotor und einem Terminator. Zwischen Promotor und Terminator können weitere gewünschte Gensequenzen wie Targetting-Sequenzen, Codierregionen von Genen oder Teilen davon etc. eingefügt werden. Zum Aufbau von Expressionskassetten
- 40 werden Promotoren und Terminatoren (USP Promotor: Baeumlein et al., Mol Gen Genet, 1991, 225 (3):459-67); OCS Terminator: Gielen et al. EMBO J. 3 (1984) 835ff.) mithilfe der Polymerasekettenreaktion isoliert und mit flankierenden Sequenzen nach Wahl auf Basis von synthetischen Oligonukleotiden maßgeschneidert.

Folgende Oligonukleotide können beispielsweise verwendet werden:

USP1 vorne: CCGGAATTCGGCGCGCCGAGCTCCTCGAGCAAATTTACACATTGCCA

USP2 vorne: CCGGAATTCGGCGCGCGAGCTCCTCGAGCAAATTTACACATTGCCA

5 USP3 vorne: CCGGAATTCGGCGCGCGGGGCTCCTCGAGCAAATTTACACATTGCCA

USP1 hinten: AAAACTGCAGGCGGCCGCCCACCGCGGTGGGCTATGAAGAAATT

USP2 hinten:CGCGGATCCGCTGGCTATGAAGAAATT

USP3 hinten: TCCCCCGGGATCGATGCCGGCAGATCTGCTGGCTATGAAGAAATT

OCS1 vorne: AAAACTGCAGTCTAGAAGGCCTCCTGCTTTAATGAGATAT

10 OCS2 vorne: CGCGGATCCGATATCGGGCCCGCTAGCGTTAACCCTGCTTTAATGAGATAT

OCS3 vorne: TCCCCCGGGCCATGGCCTGCTTTAATGAGATAT

OCS1 hinten: CCCAAGCTTGGCGCGCGGGGCTCGAATTCGTCGACGGACAATCAGTAAATTGA

OCS2 hinten:CCCAAGCTTGGCGCGCGAGCTCGAATTCGTCGACGGACAATCAGTAAATTGA

OCS3 hinten:CCCAAGCTTGGCGCGCCGAGCTCGTCGACGGACAATCAGTAAATTGA

15

Die Methoden sind dem Fachmann auf dem Gebiet bekannt und sind allgemein literaturbekannt.

In einem ersten Schritt werden ein Promotor und ein Terminator 20 über PCR amplifiziert. Dann wird der Terminator in ein Empfängerplasmid kloniert und in einem zweiten Schritt der Promotor vor den Terminator inseriert. Mithin erhält man eine Expressionskassette auf einem Trägerplasmid. Auf Basis des Plamides pUC19 werden die Plasmide pUT1, 2 und 3 erstellt.

25

Die Konstrukte sind erfindungsgemäß in SEQ ID NO: 33, 34 bis 42 definiert. Sie enthalten den USP-Promotor und den OCS Terminator. Auf Basis dieser Plasmide wird das Konstrukt pUT12 erstellt, indem pUT1 mittels SalI/ScaI geschnitten wird und pUT2 mittels

- 30 XhoI/ScaI geschnitten wird. Die die Expressionskassetten enthaltenden Fragmente werden ligiert und in E. coli XLI blue MRF transformiert. Es wird nach Vereinzelung ampicillinresistenter Kolonien DNA präpariert und per Restriktionsanalyse solche Klone identifiziert, die zwei Expressionskassetten enthalten. Die XhoI/
- 35 Sall Ligation kompatibler Enden hat dabei die beiden Schnittstellen XhoI und Sall zwischen den Expressionskassetten eleminiert. Es resultiert das Plasmid pUT12, das in SEQ ID NO: 36 definiert ist. Anschließend wird pUT12 wiederum mittels Sal/Scal geschnitten und pUT3 mittels XhoI/Scal geschnitten. Die die
- 40 Expressionskassetten enthaltenden Fragmente werden ligiert und in E. coli XLI blue MRF transformiert. Es wird nach Vereinzelung ampicillinresistenter Kolonien DNA präpariert und per Restriktionsanalyse solche Klone identifiziert, die drei Expressionskassetten enthalten. Auf diese Weise wird ein Set von Multi-
- 45 expressionskassetten geschaffen, dass für die Insertion

gewünschter DNA genutzt werden kann und in Tabelle 1 beschrieben wird und zudem noch weitere Expressionskassetten aufnehmen kann.

Diese enthalten folgende Elemente:

Tabelle 1

	PUC19-	Schnittstellen vor dem	Multiple	Schnittstellen hinter dem			
10	Derivat	USP Promotor	Klonierungs-Schnittstellen	OCS-Terminator			
	77.771	CDI/AI/Co-I/VhoI	BstXI/NotI/ PstI/XbaI/StuI	Sall/EcoRI/ Sacl/AscI/			
	PUTI	EcoRI/AscI/ SacI/XhoI	DSIATINOID FSIT/ADAI/Stitt	HindIII			
	DIFFO	FDI/AI/Cosl/Vhot	BamHI/EcoRV/ ApaI/NheI/ HpaI	Sall/EcoRl/ Sacl/Ascl/			
	PUT2	EcoRI/AscI/SacI/XhoI	<u> </u>	HindIII			
15	PUT3	EcoRI/AscI/SacI/XhoI	BglII/Nael/ Clal/Smal/Ncol	Sall/Sacl/ Ascl/HindIII			
	PUT12		BstXI/NotI/ PstI/XbaI/StuI	Sall/EcoRI/ Sacl/Ascl/			
	Doppel-	EcoRI/AscI/ SacI/XhoI	Und				
	expressions-	ECORD ASCIDATION	BamHI/EcoRV/ ApaI/NheI/ HpaI	HindIII			
	kasette		Bantin Ecoky Apan vice Tipa				
	DITTIOS		1. BstXI/NotI/ PstI/XbaI/StuI				
20	PUT123		und	Sall/Sacl/Ascl/HindIII			
	Tripel-	EcoRI/AscI/ SacI/XhoI	2. BamHI/EcoRV/ ApaI/NheI/ HpaI				
	expressions-		und				
	kassette		3. BglII/Nael/ Clal/Smal/Ncol				

Weiterhin lassen sich wie beschrieben und wie in Tabelle 2 näher spezifiziert weitere Multiexpressionskassetten mithilfe des

- i) USP-Promotors oder mithilfe des
- ii) 700 Basenpaare 3'-Fragmentes des LeB4-Promotors oder mithilfe des
- 30 iii) DC3-Promotors erzeugen und für samenspezifische Genexpression einsetzen.

Der DC3-Promotor ist beschrieben bei Thomas, Plant Cell 1996, 263:359-368 und besteht lediglich aus der Region -117 bis +26 weshalb er mithin einer der kleinsten bekannten samenspezifischen Promotoren darstellt. Die Expressionskassetten können mehrfach den selben Promotor enthalten oder aber über drei verschiedene Promotoren aufgebaut werden.

Dem Sequenzprotokoll SEQ ID NO: 43 bis 49 sind die für die Pflanzentransformation verwendeten Vektoren sowie die Sequenzen der inserierten Gene/Proteine zu entnehmen.

Vorteilhaft verwendete Polylinker- bzw. Polylinker-Terminator-45 Polylinker sind den Sequenzen SEQ ID NO: 50 bis 52 zu entnehmen.

25

Tabelle 2: Multiple Expressionskassetten

	Plasmidname des	Schnittstellen vor dem	Multiple	Schnittstellen hinter			
5	pUC19-Derivates	jeweiligen Promotor	Klonierungs-Schnittstellen	dem OCS-Terminator			
	PUTI	Je. 10		Sall/EcoRl/Sacl/Ascl/ HindIII			
	(pUC19 mit	EcoRI/AscI/SacI/XhoI	(1) BstXI/NotI/PstI/ XbaI/StuI				
	USP-OCS1)	n					
	PDCT		(2) BamHI/EcoRV/ ApaI/NheI/	Sall/EcoRI/SacI/AscI/ HindIII			
10	(pUC19 mit	EcoRI/AscI/SacI/XhoI	HpaI				
	DC3-OCS)						
	PleBT		(a) = 1 = 1 (a) 1 (a) 1 (b) 1	Sall/Sacl/Ascl/HindIII			
	(pUC19-mit	EcoRI/AscI/SacI/XhoI	(3) BglII/Nael/ Clal/Smal/Ncol				
	LeB4(700)-OCS)		(I) P. MEN. ALD. AND ALCOH				
	PUD12		(1) BstXI/NotI/ PstI/XbaI/StuI	Sall/EcoRl/Sacl/Ascl/			
	(pUC 19 mit mit	EcoRI/AscI/SacI/XhoI	und	HindIII			
15	USP-OCS1 und		(2) BamHI/EcoRV/ ApaI/NheI/	ramouti			
	mit DC3-OCS)		Hpal				
	PUDL123		(1) BstXI/NotI/ PstI/XbaI/StuI und	Sall/Sacl/Ascl/HindIII			
	Triple expression		(2) BamHI/ (EcoRV*)/ApaI/NheI/	Sairsacrascrimum			
20	cassette	EcoRI/AscI/SacI/XhoI	' '				
	(pUC19 mit		Hpal und				
	USP/DC3 und		(3) BglII/Nael/ Clal/Smal/Ncol				
	LeB4-700)						

* EcoRV Schnittstelle schneidet im 700 Basenpaarfragment des LeB4 Promotors (LeB4-700)

Analog lassen sich weitere Promotoren für Multigenkonstrukte erzeugen insbesondere unter Verwendung des

- a) 2,7 kB Fragmentes des LeB4-Promotors oder mithilfe des
- 30 b) Phaseolin-Promotors oder mithilfe des
 - c) konstitutiven v-ATPase c1-Promotors.

Es kann insbesondere wünschenswert sein, weitere besonders geeignete Promotoren zum Aufbau samenspezifischer Multiexpressions-35 kassetten wie z.B. den Napin-Promotor oder den Arcelin-5 Promotor zu verwenden.

II) Erstellung von Expressionskonstrukten, die Promotor,
 Terminator und gewünschte Gensequenz zur PUFA Genexpression
 in pflanzlichen Expressionskassetten enthalten.

In pUT123 wird zunächst über BstXI und XbaI die Δ-6-Elongase
Pp_PSEl in die erste Kassette inseriert. Dann wird die
Δ-6-Desaturase aus Moos (Pp_des6) über BamHI/NaeI in die
zweite Kassette inseriert und schließlich die Δ-5-Desaturase
aus Phaeodactylum (Pt_des5) über BglII/NcoI in die dritte
Kassette inseriert. Das Dreifachkonstrukt erhält den Namen pARA1.

48

Unter Berücksichtigung sequenzspezifischer Restriktionsschnittstellen können weitere Expressionskassetten gemäß Tabelle 3 mit der Bezeichnung pARA2, pARA3 und pARA4 erstellt werden.

5 Tabelle 3: Kombinationen von Desaturasen und Elongasen

Γ	Gen Plasmid	Δ-6-Desaturase	Δ-5-Desaturase	Δ-6-Elongase			
	pARAI	Pp_des6	Pt_des5	Pp_PSE1			
 	pARA2	Pt_des6	Pt_des5	Pp_PSE1			
10	pARA3	Pt_des6	Ce_des5	Pp_PSE1			
-	PARA4	Ce des6	Ce_des5	Ce_PSE1			

Pp = Physcomitrella patens, Pt = Phaeodactylum tricornutum
15 Pp_PSE1 entspricht der Sequenz aus SEQ ID NO: 9.

PSE = PUFA spezifische Δ -6-Elongase

Ce_des5 = Δ -5-Desaturase aus Caenorhabditis elegans (Genbank Acc. Nr. AF078796)

Ce_des6 = Δ -6-Desaturase aus Caenorhabditis elegans elegans (Genbank Acc. Nr. AF031477, Basen 11-1342)

Ce_PSE1 = Δ -6-Elongase aus Caenorhabditis elegans (Genbank Acc. Nr. AF244356, Basen 1-867)

Auch weitere Desaturasen oder Elongasegensequenzen können in

Expressionskassetten beschriebener Art inseriert werden wie

z.B. Genbank Acc. Nr. AF231981, NM_013402, AF206662, AF268031,

AF226273, AF110510 oder AF110509.

iii) Transfer von Expressionskassetten in Vektoren zur Transformation von Agrobakterium tumefaciens und zur Transformation von Pflanzen

Die so erstellten Konstrukte werden mittels AscI in den binären Vektor pGPTV inseriert. Die multiple Klonierungssequenz wird zu diesem Zweck um eine AscI Schnittstelle erweitert. Zu diesem Zweck wird der Polylinker als zwei doppelsträngige Oligonukleotide neu synthetisiert, wobei eine zusätzliche AscI DNA Sequenz eingefügt wird. Das Oligonukleotid wird mittels EcoRI und HindIII in den Vektor pGPTV inseriert. Die notwendigen Kloniertechniken sind dem Fachmann bekannt und können einfach wie in Beispiel 1 beschrieben nachgelesen werden.

Beispiel 6: Untersuchung der Expression eines rekombinanten Genproduktes in einem transformierten Organismus

Die Aktivität eines rekombinanten Genproduktes im transformierten 5 Wirtsorganismus kann auf der Transkriptions- und/oder der Translationsebene gemessen werden.

Ein geeignetes Verfahren zur Bestimmung der Menge an Transkription des Gens (ein Hinweis auf die Menge an RNA, 10 die für die Translation des Genproduktes zur Verfügung steht) ist die Durchführung eines Northern-Blots wie unten ausgeführt (als Bezugsstelle siehe Ausubel et al. (1988) Current Protocols in Molecular Biology, Wiley: New York, oder den oben erwähnten Beispielteil), wobei ein Primer, der so gestaltet ist, dass er 15 an das Gen von Interesse bindet, mit einer nachweisbaren Markierung (gewöhnlich radioaktiv oder chemilumineszent) markiert wird, so dass, wenn die Gesamt-RNA einer Kultur des Organismus extrahiert, auf einem Gel aufgetrennt, auf eine stabile Matrix transferiert und mit dieser Sonde inkubiert wird, die Bindung und 20 das Ausmaß der Bindung der Sonde das Vorliegen und auch die Menge der mRNA für dieses Gen anzeigt. Diese Information zeigt den Grad der Transkription des transformierten Gens an. Zelluläre Gesamt-RNA kann aus Zellen, Geweben oder Organen mit mehreren Verfahren, die alle im Fachgebiet bekannt sind, wie zum Beispiel 25 das von Bormann, E.R., et al. (1992) Mol. Microbiol. 6:317-326 beschriebene, präpariert werden.

Northern-Hybridisierung:

- 30 Für die RNA-Hybridisierung wurden 20 μg Gesamt-RNA oder 1 μg poly(A)*-RNA mittels Gelelektrophorese in Agarosegelen mit einer Stärke von 1,25 % unter Verwendung von Formaldehyd, wie beschrieben in Amasino (1986, Anal. Biochem. 152, 304) aufgetrennt, mittels Kapillaranziehung unter Verwendung von 10 x 35 SSC auf positiv geladene Nylonmembranen (Hybond N+, Amersham,
- 35 SSC auf positiv geladene Nylonmembranen (Hybond N+, Amersham, Braunschweig) übertragen, mittels UV-Licht immobilisiert und 3 Stunden bei 68°C unter Verwendung von Hybridisierungspuffer (10 % Dextransulfat Gew./Vol., 1 M NaCl, 1 % SDS, 100 mg Heringssperma-DNA) vorhybridisiert. Die Markierung der DNA-Sonde mit
- 40 dem Highprime DNA labeling-Kit (Roche, Mannheim, Deutschland) erfolgte während der Vorhybridisierung unter Verwendung von alpha-32P-dCTP (Amersham, Braunschweig, Deutschland). Die Hybridisierung wurde nach Zugabe der markierten DNA-Sonde im gleichen Puffer bei 68°C über Nacht durchgeführt. Die Waschschritte wurden
- 45 zweimal für 15 min unter Verwendung von 2 X SSC und zweimal für 30 min unter Verwendung von 1 X SSC, 1 % SDS, bei 68°C durch-

WO 03/093482

50
geführt. Die Exposition der verschlossenen Filter wurde bei -70°C

für einen Zeitraum von 1 bis 14 T durchgeführt.

PCT/EP03/04297

Zur Untersuchung des Vorliegens oder der relativen Menge an von 5 dieser mRNA translatiertem Protein können Standardtechniken, wie ein Western-Blot, eingesetzt werden (siehe beispielsweise Ausubel et al. (1988) Current Protocols in Molecular Biology, Wiley: New York). Bei diesem Verfahren werden die zellulären Gesamt-Proteine extrahiert, mittels Gelelektrophorese aufgetrennt,

10 auf eine Matrix, wie Nitrozellulose, übertragen und mit einer Sonde, wie einem Antikörper, der spezifisch an das gewünschte Protein bindet, inkubiert. Diese Sonde ist gewöhnlich mit einer chemilumineszenten oder kolorimetrischen Markierung versehen, die sich leicht nachweisen lässt. Das Vorliegen und die Menge 15 der beobachteten Markierung zeigt das Vorliegen und die Menge des gewünschten, in der Zelle vorliegenden mutierten Proteins an.

Beispiel 7: Analyse der Auswirkung der rekombinanten Proteine auf die Produktion des gewünschten Produktes

20

Die Auswirkung der genetischen Modifikation in Pflanzen, Pilzen, Algen, Ciliaten oder auf die Produktion einer gewünschten Verbindung (wie einer Fettsäure) kann bestimmt werden, indem die modifizierten Mikroorganismen oder die modifizierte Pflanze

- 25 unter geeigneten Bedingungen (wie den vorstehend beschriebenen) gezüchtet werden und das Medium und/oder die zellulären Komponenten auf die erhöhte Produktion des gewünschten Produktes (d.h. von Lipiden oder einer Fettsäure) untersucht wird. Diese Analysetechniken sind dem Fachmann bekannt und umfassen Spektroskopie,
- 30 Dünnschichtchromatographie, Färbeverfahren verschiedener Art, enzymatische und mikrobiologische Verfahren sowie analytische Chromatographie, wie Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (siehe beispielsweise Ullman, Encyclopedia of Industrial Chemistry, Bd. A2, S. 89-90 und S. 443-613, VCH: Weinheim (1985);
- 35 Fallon, A., et al., (1987) "Applications of HPLC in Biochemistry" in: Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology, Bd. 17; Rehm et al. (1993) Biotechnology, Bd. 3, Kapitel III: "Product recovery and purification", S. 469-714, VCH: Weinheim; Belter, P.A., et al. (1988) Bioseparations: downstream processing
- 40 for Biotechnology, John Wiley and Sons; Kennedy, J.F., und Cabral, J.M.S. (1992) Recovery processes for biological Materials, John Wiley and Sons; Shaeiwitz, J.A., und Henry, J.D. (1988) Biochemical Separations, in: Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Bd. B3; Kapitel 11, S. 1-27, VCH: Weinheim; und
- **45** Dechow, F.J. (1989) Separation and purification techniques in biotechnology, Noyes Publications).

Neben den oben erwähnten Verfahren werden Pflanzenlipide aus Pflanzenmaterial wie von Cahoon et al. (1999) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96 (22):12935-12940, und Browse et al. (1986) Analytic Biochemistry 152:141-145, beschrieben extrahiert. Die qualitative und quantitative Lipid- oder Fettsäureanalyse ist beschrieben bei Christie, William W., Advances in Lipid Methodology, Ayr/Scotland: Oily Press (Oily Press Lipid Library; 2); Christie, William W., Gas Chromatography and Lipids. A Practical Guide - Ayr, Scotland: Oily Press, 1989, Repr. 1992, IX, 307 S. (Oily Press Lipid Library; 1); "Progress in Lipid Research, Oxford: Pergamon Press, 1 (1952) - 16 (1977) u.d.T.: Progress in the Chemistry of Fats and Other Lipids CODEN.

- Zusätzlich zur Messung des Endproduktes der Fermentation ist

 15 es auch möglich, andere Komponenten der Stoffwechselwege zu analysieren, die zur Produktion der gewünschten Verbindung verwendet werden, wie Zwischen- und Nebenprodukte, um die Gesamteffizienz der Produktion der Verbindung zu bestimmen. Die Analyseverfahren umfassen Messungen der Nährstoffmengen im Medium (z.B. Zucker,
- 20 Kohlenwasserstoffe, Stickstoffquellen, Phosphat und andere Ionen), Messungen der Biomassezusammensetzung und des Wachstums, Analyse der Produktion üblicher Metabolite von Biosynthesewegen und Messungen von Gasen, die während der Fermentation erzeugt werden. Standardverfahren für diese Messungen sind in Applied
- 25 Microbial Physiology; A Practical Approach, P.M. Rhodes und P.F. Stanbury, Hrsgb., IRL Press, S. 103-129; 131-163 und 165-192 (ISBN: 0199635773) und darin angegebenen Literaturstellen beschrieben.
- 30 Ein Beispiel ist die Analyse von Fettsäuren (Abkürzungen: FAME, Fettsäuremethylester; GC-MS, Gas-Flüssigkeitschromatographie-Massenspektrometrie; TAG, Triacylglycerin; TLC, Dünnschichtchromatographie).
- 35 Der unzweideutige Nachweis für das Vorliegen von Fettsäureprodukten kann mittels Analyse rekombinanter Organismen nach Standard-Analyseverfahren erhalten werden: GC, GC-MS oder TLC, wie verschiedentlich beschrieben von Christie und den Literaturstellen darin (1997, in: Advances on Lipid Methodology, Vierte
- **40** Aufl.: Christie, Oily Press, Dundee, 119-169; 1998, Gaschromatographie-Massenspektrometrie-Verfahren, Lipide 33:343-353).

Das zu analysierende Material kann durch Ultraschallbehandlung, Mahlen in der Glasmühle, flüssigen Stickstoff und Mahlen oder

45 über andere anwendbare Verfahren aufgebrochen werden. Das Material muss nach dem Aufbrechen zentrifugiert werden. Das Sediment wird in Aqua dest. resuspendiert, 10 min bei 100°C

52

erhitzt, auf Eis abgekühlt und erneut zentrifugiert, gefolgt von Extraktion in 0,5 M Schwefelsäure in Methanol mit 2 % Dimethoxypropan für 1 Std. bei 90°C, was zu hydrolysierten Ölund Lipidverbindungen führt, die transmethylierte Lipide ergeben. 5 Diese Fettsäuremethylester werden in Petrolether extrahiert und

- 5 Diese Fettsäuremethylester werden in Petrolether extrahiert und schließlich einer GC-Analyse unter Verwendung einer Kapillarsäule (Chrompack, WCOT Fused Silica, CP-Wax-52 CB, 25 mikrom, 0,32 mm) bei einem Temperaturgradienten zwischen 170°C und 240°C für 20 min und 5 min bei 240°C unterworfen. Die Identität der erhaltenen
- 10 Fettsäuremethylester muss unter Verwendung von Standards, die aus kommerziellen Quellen erhältlich sind (d.h. Sigma), definiert werden.

Bei Fettsäuren, für die keine Standards verfügbar sind, muss die 15 Identität über Derivatisierung und anschließende GC-MS-Analyse gezeigt werden. Beispielsweise muss die Lokalisierung von Fettsäuren mit Dreifachbindung über GC-MS nach Derivatisierung mit 4,4-Dimethoxyoxazolin-Derivaten (Christie, 1998, siehe oben) gezeigt werden.

20

Expressionskonstrukte in heterologen mikrobiellen Systemen

Stämme, Wachstumsbedingungen und Plasmide

- 25 Der Escherichia coli-Stamm XL1 Blue MRF' kan (Stratagene) wurde zur Subklonierung der neuen Desaturase pPDesaturasel aus Physcomitrella patens verwendet. Für die funktionelle Expression dieses Gens verwendeten wir den Saccharomyces cerevisiae-Stamm INVSc 1 (Invitrogen Co.). E. coli wurde in Luria-Bertini-Brühe (LB,
- 30 Duchefa, Haarlem, Niederlande) bei 37°C kultiviert. Wenn nötig, wurde Ampicillin (100 mg/Liter) zugegeben, und 1,5 % Agar (Gew./Vol.) wurde für feste LB-Medien hinzugefügt. S. cerevisiae wurde bei 30°C entweder in YPG-Medium oder in komplettem Minimalmedium ohne Uracil (CMdum; siehe in: Ausubel, F.M., Brent, R., Kingston,
- 35 R.E., Moore, D.D., Seidman, J.G., Smith, J.A., Struhl, K., Albright, L.B., Coen, D.M., und Varki, A. (1995) Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York) mit entweder 2 % (Gew./Vol.) Raffinose oder Glucose kultiviert. Für feste Medien wurden 2 % (Gew./Vol.) Bacto™-Agar (Difco)
- 40 hinzugefügt. Die zur Klonierung und Expression verwendeten Plasmide sind pUC18 (Pharmacia) und pYES2 (Invitrogen Co.).

53

WO 03/093482 PCT/EP03/04297

Beispiel 8: Klonierung und Expression PUFA-spezifischer Desaturasen und Elongaen

Für die Expression in Pflanzen wurden cDNA Klone aus 5 SeQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31. so modifiziert, dass lediglich die Codierregion mittels Polymerase Kettenreaktion unter Zuhilfenahme zweier Oligonukleotide amplifiziert werden. Dabei wurde darauf geachtet, dass eine Konsensusequenz vor dem Startcodon zur effizienten 10 Translation eingehalten wurde. Entweder wurde hierzu die Basenfolge ATA oder AAA gewählt und vor das ATG in die Sequenz eingefügt (Kozak, M. (1986) Point mutations define a sequence flanking the AUG initiator codon that modulates translation by eukaryotic ribosomes, Cell 44, 283-292). Vor diesem Konsensustriplett 15 wurde zusätzlich eine Restriktionsschnittstelle eingeführt, die kompatibel sein muss zur Schnittstelle des Zielvektors, in den das Fragment kloniert werden soll und mit dessen Hilfe die Genexpression in Mikroorganismen oder Pflanzen erfolgen soll.

20

Die PCR-Reaktion wurde mit Plasmid-DNA als Matrize in einem Thermocycler (Biometra) mit der Pfu-DNA-(Stratagene)Polymerase und dem folgenden Temperaturprogramm durchgeführt: 3 min bei 96°C, gefolgt von 30 Zyklen mit 30 s bei 96°C, 30 s bei 55°C und 2 min bei 72°C, 1 Zyklus mit 10 min bei 72°C und Stop bei 4°C. Die Anlagerungstemperatur wurde je nach gewählten Oligonukleotiden variiert. Pro Kilobasenpaare DNA ist von einer Synthesezeit von etwa einer Minute auszugehen. Weitere Parameter, die Einfluss auf die PCR haben wie z.B. Mg-Ionen, Salz, DNA Polymerase etc., 30 sind dem Fachmann auf dem Gebiet geläufig und können nach Bedarf variiert werden.

Die korrekte Größe des amplifizierten DNA-Fragments wurde mittels Agarose-TBE-Gelelektrophorese bestätigt. Die amplifizierte DNA

35 wurde aus dem Gel mit dem QIAquick-Gelextraktionskit (QIAGEN) extrahiert und in die SmaI-Restriktionsstelle des dephosphory-lierten Vektors pUC18 unter Verwendung des Sure Clone Ligations Kit (Pharmacia) ligiert, wobei die pUC-Derivate erhalten wurden. Nach der Transformation von E. coli XL1 Blue MRF' kan wurde eine DNA-Minipräparation (Riggs, M.G., & McLachlan, A. (1986) A simplified screening procedure for large numbers of plasmid minipreparation. BioTechniques 4, 310-313) an ampicillinresistenten Transformanden durchgeführt, und positive Klone mittels BamHI-Restriktionsanalyse identifiziert. Die Sequenz des klonierten

54

ABI PRISM Big Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Perkin-Elmer, Weiterstadt) bestätigt.

Fettsäureanalyse

5

Die Gesamt-Fettsäuren wurden aus Pflanzensamen extrahiert und mittels Gaschromatographie analysiert.

Die Samen wurden mit 1 % Natriummethanolat in Methoanol aufgenommen und 20 min bei RT inkubiert. Anschließend wird mit NaCl

- 10 Lösung gewaschen und die FAME in 0,3 ml Heptan aufgenommen. Die Proben wurden auf einer ZEBRON-ZB-Wax-Kapillarsäule (30 m, 0,32 mm, 0,25 mikro m; Phenomenex) in einem Hewlett Packard-6850-Gaschromatograph mit einem Flammenionisationsdetektor aufgetrennt. Die Ofentemperatur wurde von 70°C (1 min halten) bis
- 15 200°C mit einer Rate von 20°C/min, dann auf 250°C (5 min halten) mit einer Rate von 5°C/min und schließlich auf 260°C mit einer Rate von 5°C/min programmiert. Stickstoff wurde als Trägergas verwendet (4,5 ml/min bei 70°C). Die Fettsäuren wurden durch Vergleich mit Retentionszeiten von FAME-Standards (SIGMA)
- 20 identifiziert.

Expressionsanalyse

Ergebnis der Expression einer Phaeodactylum tricornutum Δ -6-Acyl Lipid Desaturase, einer Phaeodactylum tricornutum Δ -5-Acyl Lipid Desaturase und der delta-6 spezifischen Elongase in Tabaksamen:

Figur 2: Fettsäureprofil von transgenen Tabaksamen. Die Pflanzen wurden mit einer 3-fach Expressionskassette transformiert, die 30 unter der Kontrolle des USP Promotors die delta-6-, die delta-5- und die Physcomitrella patens PpPSE1 exprimiert (pARA2). Es wurden 100 transgene Tabak und Leinpflanzen hergestellt, von denen ca. 20 % Arachidonsäure im Samen synthetisierten.

35 Figur 3: Tabak Wildtypkontrolle.

Beispiel 9: Reinigung des gewünschten Produktes aus transformierten Organismen

- 40 Die Gewinnung des gewünschten Produktes aus Pflanzenmaterial oder Pilzen, Algen, Ciliaten, tierischen Zellen oder aus dem Überstand der vorstehend beschriebenen Kulturen kann durch verschiedene, im Fachgebiet bekannte Verfahren erfolgen. Wird das gewünschte Produkt nicht aus den Zellen sezerniert, können die Zellen aus
- 45 der Kultur durch langsame Zentrifugation geerntet werden, die Zellen können durch Standardtechniken, wie mechanische Kraft oder Ultraschallbehandlung, lysiert werden. Organe von Pflanzen können

55

mechanisch von anderem Gewebe oder anderen Organen getrennt werden. Nach der Homogenisation werden die Zelltrümmer durch Zentrifugation entfernt, und die Überstandsfraktion, welche die löslichen Proteine enthält, wird zur weiteren Reinigung 5 der gewünschten Verbindung aufbewahrt. Wird das Produkt aus gewünschten Zellen sezerniert, werden die Zellen durch langsame Zentrifugation aus der Kultur entfernt, und die Überstandsfraktion wird zur weiteren Reinigung aufbewahrt.

10 Die Überstandsfraktion aus jedem Reinigungsverfahren wird einer Chromatographie mit einem geeigneten Harz unterworfen, wobei das gewünschte Molekül entweder auf dem Chromatographieharz zurückgehalten wird, viele Verunreinigungen in der Probe jedoch nicht, oder die Verunreinigungen auf dem Harz zurückbleiben, die Probe 15 hingegen nicht. Diese Chromatographieschritte können wenn nötig wiederholt werden, wobei die gleichen oder andere Chromatographieharze verwendet werden. Der Fachmann ist in der Auswahl geeigneter Chromatographieharze und ihrer wirksamsten Anwendung für ein bestimmtes zu reinigendes Molekül bewandert. Das 20 gereinigte Produkt kann durch Filtration oder Ultrafiltration konzentriert und bei einer Temperatur aufbewahrt werden, bei der die Stabilität des Produktes maximal ist. Im Fachgebiet ist ein breites Spektrum an Reinigungsverfahren bekannt, und das vorstehende Reinigungsverfahren soll nicht 25 beschränkend sein. Diese Reinigungsverfahren sind zum Beispiel beschrieben in Bailey, J.E., & Ollis, D.F., Biochemical Engineering Fundamentals, McGraw-Hill: New York (1986).

Die Identität und Reinheit der isolierten Verbindungen kann 30 durch Standardtechniken des Fachgebiets bestimmt werden. Dazu gehören Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC), spektroskopische Verfahren, Färbeverfahren, Dünnschichtchromatographie, insbesondere Dünnschichtchromatographie und Flammenionisationsdetektion (IATROSCAN, Iatron, Tokio, Japan), NIRS, Enzymtest oder 35 mikrobiologisch. Eine Übersicht über diese Analyseverfahren siehe in: Patek et al. (1994) Appl. Environ. Microbiol. 60:133-140; Malakhova et al. (1996) Biotekhnologiya 11:27-32; und Schmidt et al. (1998) Bioprocess Engineer. 19:67-70. Ulmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry (1996) Bd. A27, VCH: Weinheim, S. 89-90, 40 S. 521-540, S. 540-547, S. 559-566, 575-581 und S. 581-587; Michal, G (1999) Biochemical Pathways: An Atlas of Biochemistry and Molecular Biology, John Wiley and Sons; Fallon, A., et al. (1987) Applications of HPLC in Biochemistry in: Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology, Bd. 17.

56

Äquivalente

Der Fachmann erkennt oder kann viele Äquivalente der hier beschriebenen erfindungsgemäßen spezifischen Ausführungsformen 5 feststellen, indem er lediglich Routineexperimente verwendet. Diese Äquivalente sollen von den Patentansprüchen umfasst sein.

10

15

20

25

30

35

40

45

10

15

20

45

Patentansprüche

Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der allgemeinen
 Formel I:

$$\begin{array}{c|c}
CH_2 & CH_2 & CH_2 & CH_2 & CH_3 \\
\hline
\end{array}$$
(I)

in transgenen Pflanzen mit einem Gehalt von mindestens 1 Gew.-% bezogen auf die gesamten Fettsäuren dadurch gekennzeichnet, dass das Verfahren folgende Schritte umfasst:

- a) Einbringen mindestens einer Nukleinsäuresequenz in eine Pflanze, die für ein Polypeptid mit einer Δ -6-Desaturaseaktivität codiert; sowie
- b) Einbringen mindestens einer zweiten Nukleinsäuresequenz, die für ein Polypeptid mit einer Δ -6-Elongaseaktivität codiert; und
- 25 c) gegebenenfalls Einbringen einer dritten Nukleinsäuresequenz, die für ein Polypeptid mit einer Δ -5-Desaturaseaktivität codiert; und
- d) anschließend kultivieren und ernten der Pflanzen; und 30 wobei die Variablen und Substituenten in der Formeln I folgende Bedeutung haben:
- R1 = -OH, Coenzym A-(Thioester), Phosphatidylcholin-, Phosphatidylethanolamin-, Phoshatidylglycerol-, Diphosphatidylglycerol-, Phosphatidylserin-, Phosphatidylinositol-, Sphingolipid-, Glycoshingolipid- oder einen Rest der folgenden allgemeinen Formel II

- R^2 = H, Phosphatidylcholin-, Phosphatidylethanolamin-, Phoshatidylglycerol-, Diphosphatidylglycerol-, Phosphatidylserin-, Phosphatidylinositol-, Shingolipid-, Glycoshingolipid-, Glycoshingolipid- oder gesättigtes oder ungesättigtes C_2 - C_2 4-Alkylcarbonyl-,
- R^3 = H, gesättigtes oder ungesättigtes C_2 - C_{24} -Alkylcarbonyl-, oder
- 10 R² und R³ unabhängig voneinander einen Rest der allgemeinen Formel Ia

15
$$CH_2$$
 CH_2 CH_2 CH_2 CH_3 (Ia),

5

45

n = 3,4 oder 6, m = 3,4 oder 5 und p = 0 oder 3.

- 2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Substituenten R^2 und R^3 unabhängig voneinander $C_{10}-C_{22}-Alkyl-carbonyl-bedeuten.$
- 25 3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Substituenten R^2 und R^3 unabhängig voneinander C_{16} , C_{18} , C_{20} oder C_{22} -Alkylcarbonyl- bedeuten.
- Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Substituenten R² und R³ unabhängig voneinander
 ungesättigtes C₁₆-, C₁₈-, C₂₀- oder C₂₂-Alkylcarbonyl- mit ein,
 Zwei, drei, vier oder fünf Doppelbindungen bedeuten.
- 5. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass die transgene Pflanze eine Ölfruchtpflanze ist.
- Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass die transgene Pflanze ausgewählt aus der Gruppe Soja, Erdnuss, Raps, Canola, Lein, Nachtkerze, Königskerze, Distel, Haselnuss, Mandel, Macadamia, Avocado, Lorbeer, Wildrosen, Kürbis, Pistazien, Sesam, Sonnenblume, Färberdistel, Borretsch, Mais, Mohn, Senf, Hanf, Rhizinus, Olive, Calendula, Punica, Ölpalme, Walnuss oder Kokosnuß ist.

30

35

- 7. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass die Verbindungen der Formel I durch Pressen oder Extraktion aus den transgenen Pflanzen in Form ihrer Öle, Fette, Lipide oder freien Fettsäuren gewonnen werden.
- 8. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass die gemäß Anspruch 7 gewonnenen Öle, Fette, Lipide oder freien Fettsäuren raffiniert werden.
- 10 9. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass man die in den Verbindungen der Formel I enthaltenden gesättigten oder ungesättigten Fettsäuren freisetzt.
- 15 10. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass die gesättigten oder ungesättigten Fettsäuren über ein alkalische Hydrolyse oder eine enzymatische Abspaltung freigesetzt werden.
- 20 11. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass die Verbindungen der allgemeinen Formel I in den transgenen Pflanzen mit einem Gehalt von mindestens 5 Gew.-% bezogen auf die gesamten Fettsäuren enthalten sind.
- 25 12. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, dass, die für die Polypeptide mit einer Δ -6-Desaturaseaktivität, Δ -6-Elongaseaktivität oder Δ -5-Desaturaseaktivität codierenden Nukleinsäuresequenzen, ausgewählt aus der Gruppe sind:
 - einer Nukleinsäuresequenz mit der in SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29 oder SEQ ID NO: 31 dargestellten Sequenz,
- b) Nukleinsäuresequenzen, die aufgrund des degenerierten genetischen Codes durch Rückübersetzung der in

 SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30 oder SEQ ID NO: 32 dargestellten Aminosäuresequenzen erhalten werden,

60

Derivate der in SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, c) SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29 oder SEQ ID NO: 31 5 dargestellten Nukleinsäuresequenz, die für Polypeptide mit der in SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, 10 SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30 oder SEQ ID NO: 32 dargestellten Aminosäuresequenzen codieren und mindestens 50 % Homologie auf Aminosäureebene aufweisen, ohne daß die enzymatische Wirkung der Polypeptide wesentlich reduziert ist. 15

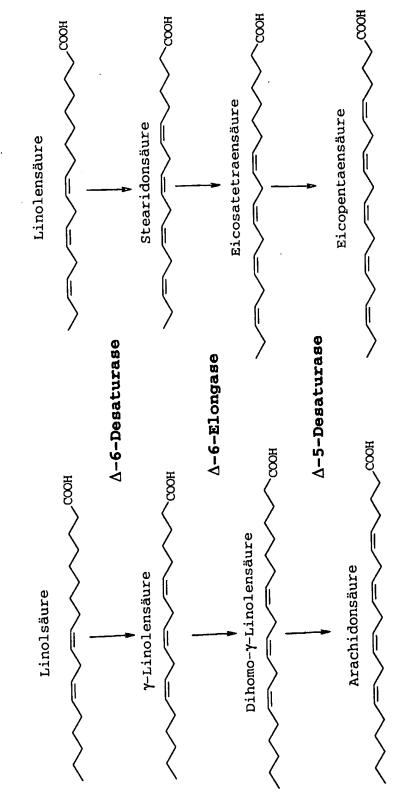
- 13. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet, dass die Nukleinsäuresequenzen gemäß Anspruch 8 in einem Nukleinsäurekonstrukt mit einem oder mehreren Regulationssignalen verknüpft sind.
- 14. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 13, dadurch gekennzeichnet, dass das Nukleinsäurekonstrukt zusätzliche Biosynthesegene des Fettsäure- oder Lipidstoffwechsels enthält ausgewählt aus der Gruppe Acyl-CoA-Dehydrogenase(n), Acyl-ACP[= acyl carrier protein]-Desaturase(n), Acyl-ACP-Thioesterase(n), Fettsäure-Acyl-Transferase(n), Fettsäure-Synthase(n), Fettsäure-Hydroxylase(n), Acetyl-Coenzym A-Carboxylase(n), Acyl-Coenzym A-Oxidase(n), Fettsäure-Desaturase(n), Fettsäure-Acetylenasen, Lipoxygenasen, Triacylglycerol-Lipasen, Allenoxid-Synthasen, Hydroperoxid-Lyasen oder Fettsäure-Elongase(n).

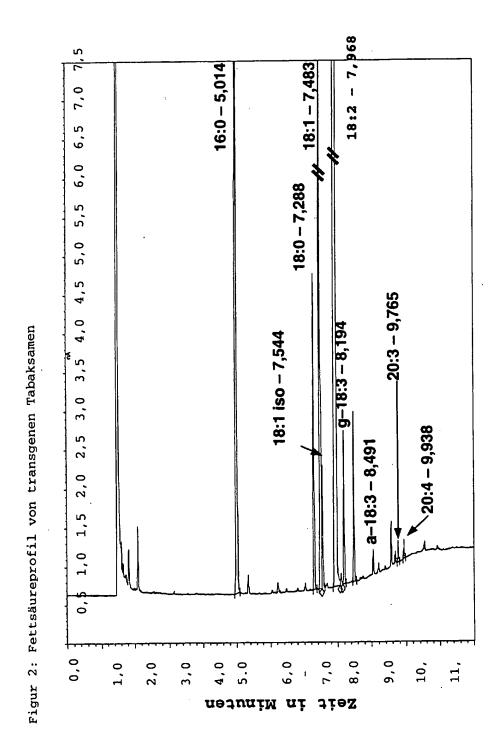
35

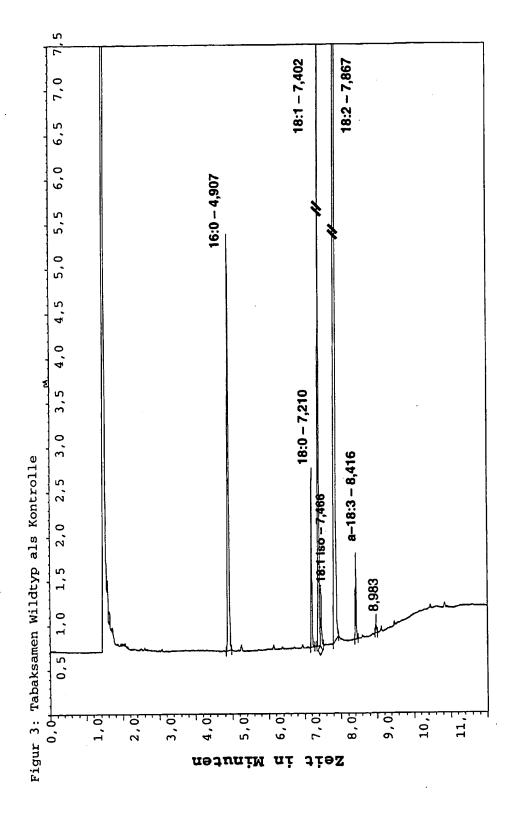
20

40

Figur 1: Biosynthesekette







SEQUENZ PROTOKOLL

<110> BASF Plant Science GmbH

<120> Verfahren zur Herstellung mehrfach ungesättigter Fettsäuren in Pflanzen

<130> 2002/271

<140> 2002_271

<141> 2002-04-26

<160> 64

<170> PatentIn Vers. 2.0

<210> 1

<211> 1687

<212> DNA

<213> Borago officinalis

<220>

<221> CDS

<222> (42)..(1388)

<223> Delta-6-Desaturase

<400> 1

tatctgccta ccctcccaaa gagagtagtc atttttcatc a atg gct gct caa atc 56 Met Ala Ala Gln Ile

1 5

aag aaa tac att acc tca gat gaa ctc aag aac cac gat aaa ccc gga 104
Lys Lys Tyr Ile Thr Ser Asp Glu Leu Lys Asn His Asp Lys Pro Gly
10 15 20

gat cta tgg atc tcg att caa ggg aaa gcc tat gat gtt tcg gat tgg 152
Asp Leu Trp Ile Ser Ile Gln Gly Lys Ala Tyr Asp Val Ser Asp Trp
25 30 35

gtg aaa gac cat cca ggt ggc agc ttt ccc ttg aag agt ctt gct ggt 200

WO 03/093482										2				P	CT/EP	03/04297
Val	Lys	Asp	His	Pro	Gly	Gly	Ser	Phe	Pro	Leu	Lys	Ser	Leu	Ala	Gly	
		40					45					50				
caa	gag	gta	act	gat	gca	ttt	gtt	gca	ttc	cat	cct	gcc	tct	aca	tgg	248
Gln	Glu	Val	Thr	Asp	Ala	Phe	Val	Ala	Phe	His	Pro	Ala	Ser	Thr	Trp	
	55					60					65					
														*	+ - +	296
_	aat															290
	Asn	Leu	Asp	Lys		Pne	Thr	GIY	туг		rea	ьys	ASP	ıyı	85	
70					75					80					6,5	
gtt	tct	gag	gtt	tct	aaa	gat	tat	agg	aag	ctt	gtg	ttt	gag	ttt	tct	344
_	Ser															
				90					95					100		
								~~+	ant	a++	ata	+++	aca.	act	tta	392
	atg															332
Lys	Met	GIY		ıyr	ASp	гÀг	гÀг	110	urs	116	Mec	FIIC	115	1111	Dea	
			105					110					113			
tgc	ttt	ata	gca	atg	ctg	ttt	gct	atg	agt	gtt	tat	ggg	gtt	ttg	ttt	440
Cys	Phe	Ile	Ala	Met	Leu	Phe	Ala	Met	Ser	Val	Tyr	Gly	Val	Leu	Phe	
		120					125					130				
_	gag															488
Cys	Glu	Gly	Val	Leu	Val	His	Leu	Phe	Ser	Gly	Cys	Leu	Met	Gly	Phe	

135 140 145

ctt tgg att cag agt ggt tgg att gga cat gat gct ggg cat tat atg 536

Leu Trp Ile Gln Ser Gly Trp Ile Gly His Asp Ala Gly His Tyr Met

gta gtg tct gat tca agg ctt aat aag ttt atg ggt att ttt gct gca 584
Val Val Ser Asp Ser Arg Leu Asn Lys Phe Met Gly Ile Phe Ala Ala
170 175 180

155

150

160

165

aat tgt ctt tca gga ata agt att ggt tgg tgg aaa tgg aac cat aat 632 Asn Cys Leu Ser Gly Ile Ser Ile Gly Trp Trp Lys Trp Asn His Asn 185 190 195

gca cat cac att gcc tgt aat agc ctt gaa tat gac cct gat tta caa 680

Ala His His Ile Ala Cys Asn Ser Leu Glu Tyr Asp Pro Asp Leu Gln 200 205 210

tat ata cca ttc ctt gtt gtg tct tcc aag ttt ttt ggt tca ctc acc 728

Tyr Ile Pro Phe Leu Val Val Ser Ser Lys Phe Phe Gly Ser Leu Thr

215 220 225

tct cat ttc tat gag aaa agg ttg act ttt gac tct tta tca aga ttc 776
Ser His Phe Tyr Glu Lys Arg Leu Thr Phe Asp Ser Leu Ser Arg Phe
230 235 240 245

ttt gta agt tat caa cat tgg aca ttt tac cct att atg tgt gct gct 824

Phe Val Ser Tyr Gln His Trp Thr Phe Tyr Pro Ile Met Cys Ala Ala

250 255 260

agg ctc aat atg tat gta caa tct ctc ata atg ttg ttg acc aag aga 872

Arg Leu Asn Met Tyr Val Gln Ser Leu Ile Met Leu Leu Thr Lys Arg

265 270 275

aat gtg tcc tat cga gct cat gaa ctc ttg gga tgc cta gtg ttc tcg 920
Asn Val Ser Tyr Arg Ala His Glu Leu Leu Gly Cys Leu Val Phe Ser
280 285 290

att tgg tac ccg ttg ctt gtt tct tgt ttg cct aat tgg ggt gaa aga 968

Ile Trp Tyr Pro Leu Leu Val Ser Cys Leu Pro Asn Trp Gly Glu Arg

295 300 305

att atg ttt gtt att gca agt ttg tca gtg act gga atg caa caa gtt 1016

Ile Met Phe Val Ile Ala Ser Leu Ser Val Thr Gly Met Gln Gln Val

310 320 325

cag ttc tcc ttg aac cac ttc tct tca agt gtt tat gtt gga aag cct 1064

Gln Phe Ser Leu Asn His Phe Ser Ser Ser Val Tyr Val Gly Lys Pro

330 335 340

aaa ggg aat aat tgg ttt gag aaa caa acg gat ggg aca ctt gac att 1112 Lys Gly Asn Asn Trp Phe Glu Lys Gln Thr Asp Gly Thr Leu Asp Ile 345 350 355

tet tgt cet eet tgg atg gat tgg ttt eat ggt gga ttg caa tte caa 1160

WO 03/093482 PCT/EP03/04297 Ser Cys Pro Pro Trp Met Asp Trp Phe His Gly Gly Leu Gln Phe Gln 370 365 360 att gag cat cat ttg ttt ccc aag atg cct aga tgc aac ctt agg aaa 1208 Ile Glu His His Leu Phe Pro Lys Met Pro Arg Cys Asn Leu Arg Lys 385 380 375 atc tcg ccc tac gtg atc gag tta tgc aag aaa cat aat ttg cct tac 1256 Ile Ser Pro Tyr Val Ile Glu Leu Cys Lys Lys His Asn Leu Pro Tyr 405 400 395 390 aat tat gca tct ttc tcc aag gcc aat gaa atg aca ctc aga aca ttg 1304 Asn Tyr Ala Ser Phe Ser Lys Ala Asn Glu Met Thr Leu Arg Thr Leu 420 415 410 agg aac aca gca ttg cag gct agg gat ata acc aag ccg ctc ccg aag 1352 Arg Asn Thr Ala Leu Gln Ala Arg Asp Ile Thr Lys Pro Leu Pro Lys 435 425 430 aat ttg gta tgg gaa gct ctt cac act cat ggt taa aattaccctt 1398 Asn Leu Val Trp Glu Ala Leu His Thr His Gly 445 440 agttcatgta ataatttgag attatgtatc tcctatgttt gtgtcttgtc ttggttctac 1458 ttgttggagt cattgcaact tgtcttttat ggtttattag atgtttttta atatatttta 1518 gaggttttgc tttcatctcc attattgatg aataaggagt tgcatattgt caattgttgt 1578 gctcaatatc tgatattttg gaatgtactt tgtaccactg tgttttcagt tgaagctcat 1638

gtgtacttct atagactttg tttaaatggt tatgaaaaaa aaaaaaaaa

1687

<210> 2

<211> 448

<212> PRT

<213> Borago officinalis

<400> 2

His Asp Lys Pro Gly Asp Leu Trp Ile Ser Ile Gln Gly Lys Ala Tyr
20 25 30

Asp Val Ser Asp Trp Val Lys Asp His Pro Gly Gly Ser Phe Pro Leu
35 40 45

Lys Ser Leu Ala Gly Gln Glu Val Thr Asp Ala Phe Val Ala Phe His 50 55 60

Pro Ala Ser Thr Trp Lys Asn Leu Asp Lys Phe Phe Thr Gly Tyr Tyr 65 70 75 80

Leu Lys Asp Tyr Ser Val Ser Glu Val Ser Lys Asp Tyr Arg Lys Leu 85 90 95

Val Phe Glu Phe Ser Lys Met Gly Leu Tyr Asp Lys Lys Gly His Ile 100 105 110

Met Phe Ala Thr Leu Cys Phe Ile Ala Met Leu Phe Ala Met Ser Val 115 120 125

Tyr Gly Val Leu Phe Cys Glu Gly Val Leu Val His Leu Phe Ser Gly 130 135 140

Cys Leu Met Gly Phe Leu Trp Ile Gln Ser Gly Trp Ile Gly His Asp 145 150 155 160

Ala Gly His Tyr Met Val Val Ser Asp Ser Arg Leu Asn Lys Phe Met

165 170 175

Gly Ile Phe Ala Ala Asn Cys Leu Ser Gly Ile Ser Ile Gly Trp Trp 180 185 190

Lys Trp Asn His Asn Ala His His Ile Ala Cys Asn Ser Leu Glu Tyr 195 200 205

Asp Pro Asp Leu Gln Tyr Ile Pro Phe Leu Val Val Ser Ser Lys Phe

210 215 220

Phe Gly Ser Leu Thr Ser His Phe Tyr Glu Lys Arg Leu Thr Phe Asp 225 . 230 235 240

Ser Leu Ser Arg Phe Phe Val Ser Tyr Gln His Trp Thr Phe Tyr Pro 245 250 255

Ile Met Cys Ala Ala Arg Leu Asn Met Tyr Val Gln Ser Leu Ile Met 260 265 270

Leu Leu Thr Lys Arg Asn Val Ser Tyr Arg Ala His Glu Leu Leu Gly 275 280 285

Cys Leu Val Phe Ser Ile Trp Tyr Pro Leu Leu Val Ser Cys Leu Pro 290 295 300

Asn Trp Gly Glu Arg Ile Met Phe Val Ile Ala Ser Leu Ser Val Thr 305 310 315 320

Gly Met Gln Gln Val Gln Phe Ser Leu Asn His Phe Ser Ser Ser Val 325 330 335

Tyr Val Gly Lys Pro Lys Gly Asn Asn Trp Phe Glu Lys Gln Thr Asp 340 345 350

Gly Thr Leu Asp Ile Ser Cys Pro Pro Trp Met Asp Trp Phe His Gly 355 360 365

Gly Leu Gln Phe Gln Ile Glu His His Leu Phe Pro Lys Met Pro Arg 370 375 380

Cys Asn Leu Arg Lys Ile Ser Pro Tyr Val Ile Glu Leu Cys Lys Lys 385 390 395 400

His Asn Leu Pro Tyr Asn Tyr Ala Ser Phe Ser Lys Ala Asn Glu Met 405 410 415

Thr Leu Arg Thr Leu Arg Asn Thr Ala Leu Gln Ala Arg Asp Ile Thr 420 425 430

Lys Pro Leu Pro Lys Asn Leu Val Trp Glu Ala Leu His Thr His Gly
435 440 445

<210> 3 <211> 1192 <212> DNA <213> Physcomitrella patens <220> <221> CDS <222> (58)..(930) <223> Delta-6-Elongase <400> 3 ctgcttcgtc tcatcttggg ggtgtgattc gggagtgggt tgagttggtg gagcgca 57 atg gag gtc gtg gag aga ttc tac ggt gag ttg gat ggg aag gtc tcg 105 Met Glu Val Val Glu Arg Phe Tyr Gly Glu Leu Asp Gly Lys Val Ser 15 5 1 cag ggc gtg aat gca ttg ctg ggt agt ttt ggg gtg gag ttg acg gat Gln Gly Val Asn Ala Leu Leu Gly Ser Phe Gly Val Glu Leu Thr Asp 25 30 20 acg ccc act acc aaa ggc ttg ccc ctc gtt gac agt ccc aca ccc atc 201 Thr Pro Thr Thr Lys Gly Leu Pro Leu Val Asp Ser Pro Thr Pro Ile 45 40 35 gtc ctc ggt gtt tct gta tac ttg act att gtc att gga ggg ctt ttg 249 Val Leu Gly Val Ser Val Tyr Leu Thr Ile Val Ile Gly Gly Leu Leu 60 50 55

tgg ata aag gcc agg gat ctg aaa ccg cgc gcc tcg gag cca ttt ttg

Trp Ile Lys Ala Arg Asp Leu Lys Pro Arg Ala Ser Glu Pro Phe Leu

ctc caa gct ttg gtg ctt gtg cac aac ctg ttc tgt ttt gcg ctc agt Leu Gln Ala Leu Val Leu Val His Asn Leu Phe Cys Phe Ala Leu Ser

70

65

75

297

WO 03/093482 PCT/EP03/04297
85 90 95

ctg	tat	atg	tgc	gtg	ggc	atc	gct	tat	cag	gct	att	acc	tgg	cgg	tac	393	
Leu	Tyr	Met	Cys	Val	Gly	Ile	Ala	Tyr	Gln	Ala	Ile	Thr	Trp	Arg	Tyr		
			100					105					110				
											•						
tct	ctc	tgg	ggc	aat	gca	tac	aat	cct	aaa	cat	aaa	gag	atg	gcg	att	441	
	Leu																
		115	•			_	120		_			125					
cta	gta	tac	ttg	ttc	tac	atg	tct	aag	tac	gtg	gaa	ttc	atg	gat	acc	489	
	Val																
	130	-3-			-	135		-	-		140						
att	atc	ato	ata	cta	aaσ	cac	agc	acc	agg.	caa	ata	agc	ttc	ctc	cac	537	
_	Ile																
145					150	3				155					160		
147					150												
	tat				tas		t 00	ata	a++	taa	taa	act	att	act	cat	585	
																303	
vaı	Tyr	HIS	HIS		ser	TTE	Ser	rea		пр	пр	ATG	116		nis		
				165				,	170					175			
																622	
	gct															633	
His	Ala	Pro	Gly	Gly	Glu	Ala	Tyr		Ser	Ala	Ala	Leu		Ser	GIĀ		
			180					185					190				
	cat															681	
Val	His	Val	Leu	Met	Tyr	Ala	Tyr	Tyr	Phe	Leu	Ala	Ala	Cys	Leu	Arg		
		195					200					205					
agt	agc	cca	aag	tta	aaa	aat	aag	tac	ctt	ttt	tgg	ggc	agg	tac	ttg	729	
Ser	Ser	Pro	Lys	Leu	Lys	Asn	Lys	Tyr	Leu	Phe	Trp	Gly	Arg	Tyr	Leu		
	210					215				•	220						
										-							
aca	caa	ttc	caa	atg	ttc	cag	ttt	atg	ctg	aac	tta	gtg	cag	gct	tac	777	
Thr	Gln	Phe	Gln	Met	Phe	Gln	Phe	Met	Leu	Asn	Leu	Val	Gln	Ala	Tyr		
225					230					235					240		
tac	gac	ato	aaa	acq	aat	gca	cca	tat	cca	caa	tgg	ctg	atc	aag	att	825	
					-							_					

Tyr Asp Met Lys Thr Asn Ala Pro Tyr Pro Gln Trp Leu Ile Lys Ile

245 250 255

ttg ttc tac tac atg atc tcg ttg ctg ttt ctt ttc ggc aat ttt tac 873
Leu Phe Tyr Tyr Met Ile Ser Leu Leu Phe Leu Phe Gly Asn Phe Tyr
260 265 270

gta caa aaa tac atc aaa ccc tct gac gga aag caa aag gga gct aaa 921 Val Gln Lys Tyr Ile Lys Pro Ser Asp Gly Lys Gln Lys Gly Ala Lys 275 280 285

act gag tga gctgtatcaa gccatagaaa ctctattatg ttagaacctg 970
Thr Glu
290

aagttggtgc tttcttatct ccacttatct tttaagcagc atcagttttg aaatgatgtg 1030

tgggcgtggt ctgcaagtag tcatcaatat aatcggcctg agcacttcag atggattgtt 1090

agaacatgag taaaagcggt tattacggtg tttattttgt accaaatcac cgcacgggtg 1150

aattgaaata tttcagattt gatcaatttc atctgaaaaa aa 1192

<210> 4

<211> 290

<212> PRT

<213> Physcomitrella patens

<400> 4

Met Glu Val Val Glu Arg Phe Tyr Gly Glu Leu Asp Gly Lys Val Ser

1 5 10 15

Gln Gly Val Asn Ala Leu Leu Gly Ser Phe Gly Val Glu Leu Thr Asp 20 25 30

Thr Pro Thr Thr Lys Gly Leu Pro Leu Val Asp Ser Pro Thr Pro Ile 35 40 45

Val Leu Gly Val Ser Val Tyr Leu Thr Ile Val Ile Gly Gly Leu Leu 50 55 60

Trp Ile Lys Ala Arg Asp Leu Lys Pro Arg Ala Ser Glu Pro Phe Leu 65 70 75 80

Leu Gln Ala Leu Val Leu Val His Asn Leu Phe Cys Phe Ala Leu Ser 85 90 95

Leu Tyr Met Cys Val Gly Ile Ala Tyr Gln Ala Ile Thr Trp Arg Tyr
100 105 110

Ser Leu Trp Gly Asn Ala Tyr Asn Pro Lys His Lys Glu Met Ala Ile 115 120 125

Leu Val Tyr Leu Phe Tyr Met Ser Lys Tyr Val Glu Phe Met Asp Thr 130 135 140

Val Ile Met Ile Leu Lys Arg Ser Thr Arg Gln Ile Ser Phe Leu His 145 150 155 160

Val Tyr His His Ser Ser Ile Ser Leu Ile Trp Trp Ala Ile Ala His 165 170 175

His Ala Pro Gly Gly Glu Ala Tyr Trp Ser Ala Ala Leu Asn Ser Gly 180 185 190

. Val His Val Leu Met Tyr Ala Tyr Tyr Phe Leu Ala Ala Cys Leu Arg 195 200 205

Ser Ser Pro Lys Leu Lys Asn Lys Tyr Leu Phe Trp Gly Arg Tyr Leu 210 220

Thr Gln Phe Gln Met Phe Gln Phe Met Leu Asn Leu Val Gln Ala Tyr 225 230 235 240

Tyr Asp Met Lys Thr Asn Ala Pro Tyr Pro Gln Trp Leu Ile Lys Ile
245 250 255

Leu Phe Tyr Tyr Met Ile Ser Leu Leu Phe Leu Phe Gly Asn Phe Tyr 260 265 270

11

Val Gln Lys Tyr Ile Lys Pro Ser Asp Gly Lys Gln Lys Gly Ala Lys 275 280 285

Thr Glu

290

<210> 5

<211> 1054

<212> DNA

<213> Thraustochytrium

<220>

<221> CDS

<222> (43)..(858)

<223> Delta-6-Elongase

<400> 5

gaattcggca cgagagcgcg cggagcggag acctcggccg cg atg atg gag ccg 54

Met Met Glu Pro

1

ctc gac agg tac agg gcg ctg gcg gag ctc gcc gcg agg tac gcc agc 102
Leu Asp Arg Tyr Arg Ala Leu Ala Glu Leu Ala Ala Arg Tyr Ala Ser
5 10 15 20

tcg gcg gcc ttc aag tgg caa gtc acg tac gac gcc aag gac agc ttc 150
Ser Ala Ala Phe Lys Trp Gln Val Thr Tyr Asp Ala Lys Asp Ser Phe
25 30 35

gtc ggg ccc ctg gga atc cgg gag ccg ctc ggg ctc ctg gtg ggc tcc 198
Val Gly Pro Leu Gly Ile Arg Glu Pro Leu Gly Leu Leu Val Gly Ser
40 45 50

gtg gtc ctc tac ctg agc ctg ctg gcc gtg gtc tac gcg ctg cgg aac 246
Val Val Leu Tyr Leu Ser Leu Leu Ala Val Val Tyr Ala Leu Arg Asn
55 60 65

tac ctt ggc ggc ctc atg gcg ctc cgc agc gtg cat aac ctc ggg ctc 294 Tyr Leu Gly Gly Leu Met Ala Leu Arg Ser Val His Asn Leu Gly Leu

70 75 80

tç	gc	ctc	ttc	tcg	ggc	gcc	gtg	tgg	atc	tac	acg	agc	tac	ctc	atg	atc	342
															Met		
8	35					90					95					100	
Cá	ag	gat	ggg	cac	ttt	cgc	agc	ctc	gag	gcg	gca	acg	tgc	gag	ccg	ctc	390
G.	ln	Asp	Gly	His	Phe	Arg	Ser	Leu	Glu	Alà	Ala	Thr	Cys	Glu	Pro	Leu	
					105					110					115		
a	ag	cat	ccg	cac	ttc	cag	ctc	atc	agc	ttg	ctc	ttt	gcg	ctg	tcc	aag	438
L	ys	His	Pro	His	Phe	Gln	Leu	Ile	Ser	Leu	Leu	Phe	Ala	Leu	Ser	Lys	
				120					125					130			
															aac		486
I	le	Trp	Glu	Trp	Phe	Asp	Thr	Val	Leu	Leu	Ile	Val	Lys	Gly	Asn	Lys	
			135					140					145				
																	534
		_													ctc		534
L	eu	_	Phe	Leu	His	Val		His	His	Ala	Thr		Pne	Trp	Leu	lyr	
		150					155					160					
								.		25.0	224	+ > 0	~~~	ata	~~~	atc	582
_			-												gcg Ala		502
		TIG	ASP	nis	116	170	Dea	Ser	Ser	116	175	-y-	OLY	V W.L		180	
1	65					170					1,0						
a	at	act	ttc	atc	cac	acc	atc	atσ	tac	aca	cac	tac	ttc	cgc	cca	ttc	630
		_													Pro		
					185				-	190		•			195		
С	cg	aag	ggc	ttg	cgc	ccg	ctt	att	acg	cag	ttg	cag	atc	gtc	cag	ttc	678
P	ro	Lys	Gly	Leu	Arg	Pro	Leu	Ile	Thr	Gln	Leu	Gln	Ile	Val	Gln	Phe	
				200					205					210			
a	tt	ttc	agc	atc	ggc	atc	cat	acc	gcc	att	tac	tgg	cac	tac	gac	tgc	726
I	le	Phe	Ser	Ile	Gly	Ile	His	Thr	Ala	Ile	Tyr	Trp	His	Tyr	Asp	Cys	
			215					220					225				
_	_														tac		774
G	lu	Pro	Leu	Val	His	Thr	His	Phe	Trp	Glu	Tyr	Val	Thr	Pro	Tyr	Leu	

WO 03/093482		PCT/EP03/04297
	13	

230 235 240

ttc gtc gtg ccc ttc ctc atc ctc ttt ttc aat ttt tac ctg cag cag

Phe Val Val Pro Phe Leu Ile Leu Phe Phe Asn Phe Tyr Leu Gln Gln

245 250 255 260

tac gtc ctc gcg ccc gca aaa acc aag aag gca tag ccacgtaaca 868

Tyr Val Leu Ala Pro Ala Lys Thr Lys Lys Ala

265 270

<210> 6

<211> 271

<212> PRT

<213> Thraustochytrium

<400> 6

Met Met Glu Pro Leu Asp Arg Tyr Arg Ala Leu Ala Glu Leu Ala Ala 1 5 10 15

Arg Tyr Ala Ser Ser Ala Ala Phe Lys Trp Gln Val Thr Tyr Asp Ala 20 25 30

Lys Asp Ser Phe Val Gly Pro Leu Gly Ile Arg Glu Pro Leu Gly Leu 35 40 45

Leu Val Gly Ser Val Val Leu Tyr Leu Ser Leu Leu Ala Val Val Tyr
50 55 60

Ala Leu Arg Asn Tyr Leu Gly Gly Leu Met Ala Leu Arg Ser Val His
65 70 75 80

Asn Leu Gly Leu Cys Leu Phe Ser Gly Ala Val Trp Ile Tyr Thr Ser 85 90 95

Tyr Leu Met Ile Gln Asp Gly His Phe Arg Ser Leu Glu Ala Ala Thr 100 105 110

Cys Glu Pro Leu Lys His Pro His Phe Gln Leu Ile Ser Leu Leu Phe 115 120 125

Ala Leu Ser Lys Ile Trp Glu Trp Phe Asp Thr Val Leu Leu Ile Val 130 135 140

Lys Gly Asn Lys Leu Arg Phe Leu His Val Leu His His Ala Thr Thr 145 150 150 160

Phe Trp Leu Tyr Ala Ile Asp His Ile Phe Leu Ser Ser Ile Lys Tyr 165 170 175

Gly Val Ala Val Asn Ala Phe Ile His Thr Val Met Tyr Ala His Tyr 180 185 190

Phe Arg Pro Phe Pro Lys Gly Leu Arg Pro Leu Ile Thr Gln Leu Gln 195 200 205

Ile Val Gln Phe Ile Phe Ser Ile Gly Ile His Thr Ala Ile Tyr Trp
210 215 220

His Tyr Asp Cys Glu Pro Leu Val His Thr His Phe Trp Glu Tyr Val 225 230 235 240

Thr Pro Tyr Leu Phe Val Val Pro Phe Leu Ile Leu Phe Phe Asn Phe 245 250 255

Tyr Leu Gln Gln Tyr Val Leu Ala Pro Ala Lys Thr Lys Lys Ala 260 265 270

<210> 7

<211> 2040

<212> DNA

WO 03/093482		PCT/EP03/04297
	15	

<213> Ceratodon purpureu

<220>

<221> CDS

<222> (176)..(1627)

<223> Delta-6-Desaturase

<400> 7

ctcaggcagg tctcagttga tgagacgctg agttctgaat cctttgagct gtgtcaggct 60

cggcacttgt gggatggtga aggagtgatc gatcaggagt gcaggagctg cattagtttc 120

tcagggtcga tcaggttatt ctgaaaaagg ctgcgtctgt gagcagtttg caaaa atg 178
Met

1

gcc ctc gtt acc gac ttt ctg aac ttt ctg ggc acg aca tgg agc aag 226
Ala Leu Val Thr Asp Phe Leu Asn Phe Leu Gly Thr Thr Trp Ser Lys
5 10 15

tac agc gtg tac acc cat agc tat gct gga aac tat ggg cct act ttg 274

Tyr Ser Val Tyr Thr His Ser Tyr Ala Gly Asn Tyr Gly Pro Thr Leu

20 25 30

aag cac gcc aaa aag gtt tct gct caa ggt aaa act gcg gga cag aca 322 Lys His Ala Lys Lys Val Ser Ala Gln Gly Lys Thr Ala Gly Gln Thr 35 40 45

ctg aga cag aga tcg gtg cag gac aaa aag cca ggc act tac tct ctg 370
Leu Arg Gln Arg Ser Val Gln Asp Lys Lys Pro Gly Thr Tyr Ser Leu
50 55 60 65

gcc gat gtt gct tct cac gac agg cct gga gac tgc tgg atg atc gtc 418

Ala Asp Val Ala Ser His Asp Arg Pro Gly Asp Cys Trp Met Ile Val

70 75 80

aaa gag aag gtg tat gat att agc cgt ttt gcg gac gac cac cct gga 466 Lys Glu Lys Val Tyr Asp Ile Ser Arg Phe Ala Asp Asp His Pro Gly 85 90 95

WO 03/093482		PCT/EP03/04297
	16	

ggg	acg	gta	att	agc	acc	tac	ttt	ggg	cgg	gat	ggc	aca	gac	gtt	ttc	514
-														Val		
		100					105			•		110				
σca	aca	ttc	cat	сса	cct	gcc	gca	tgg	aag	caa	ctc	aat	gac	tac	tac	562
														Tyr		
•••	115					120					125					
att	gga	gac	ctt	gct	agg	gaa	gag	CCC	ctt	gat	gaa	ttg	ctt	aaa	gac	610
														Lys		
130	3				135					140					145	
tac	aga	gat	atg	aga	gcc	gag	ttt	gtt	aga	gaa	ggg	ctt	ttc	aag	agt	658
														Lys		
	3	•		150					155					160		
tcc	aag	acc	taa	ttc	ctg	ctt	cag	act	ctg	att	aat	gca	gct	ctc	ttt	706
														Leu		
			165			•		170					175			
							•									
act	aca	agc	att	aca	act	atc	tgt	tac	gac	aag	agt	tac	tgg	gct	att	754
														Ala		
		180					185	•	_	_		190				
ata	cta	tca	acc	agt	tta	atg	ggt	ctc	ttc	gtc	caa	cag	tgt	gga	tgg	802
														Gly		
	195					200	•				205				•	
ct.t	acc	cat	gat	ttc	ctt	cat	caa	cag	gtc	ttt	gag	aac	cgt	acc	gcg	850
														Thr		
210					215					220					225	
aac	tcc	ttc	ttt	aac	tat	ttg	ttc	ggc	aat	tgc	gtg	ctt	ggc	ttt	agt	898
														Phe		
	002			230	-3-			•	235	•				240		
									·							
gta	tca	taa	taa	agg	acq	aag	cac	aac	att	cat	cat	act	gct	ccg	aat	946
														Pro		
		~~ E	245	3		•		250					255			

	1									1,						
gag	tgc	gac	gaa	cag	tac	aca	cct	cta	gac	gaa	gac	att	gat	act	ctc	994
Glu	Cys	Asp	Glu	Gln	Tyr	Thr	Pro	Leu	Asp	Glu	Asp	Ile	Asp	Thr	Leu	
		260					265					270				
ccc	atc	att	acc	tgg	agc	aaq	σаа	att	tta	acc	acc	att	gag	agc	aag	1042
				Trp												
Pro		TIE	ATG	TIP	Ser		GIU	116	Deu	71.14	285	V 4.2	024	-	-1-	
	275					280					203					
															ata	1090
-				gtg												1030
Arg	Ile	Leu	Arg	Val		Gln	Tyr	Gln	His		Met	ile	Leu	Pro		
290					295					300					305	
ttg	ttc	atg	gcc	cgg	tac	agt	tgg	act	ttt	gga	agt	ttg	ctc	ttc	aca	1138
Leu	Phe	Met	Ala	Arg	Tyr	Ser	Trp	Thr	Phe	Gly	Ser	Leu	Leu	Phe	Thr	
				310					315					320		
ttc	aat	cct	gat	ttg	agc	acg	acc	aag	gga	ttg	ata	gag	aag	gga	aca	1186
Phe	Asn	Pro	Asp	Leu	Ser	Thr	Thr	Lys	Gly	Leu	Ile	Glu	Lys	Gly	Thr	
			325					330					335			
att	act	++ +	cac	tac	acc	taa	ttc	agt	taa	act	aca	ttc	cat	att	ttg	1234
				Tyr												
vai	ATG		1113	171	7,44	115	345	001				350			-	
		340					343					550				
								-~~	- t-~	~+ =	~~~	act	asa	ctt	ata	1282
_				aag -												1202
Pro		Val	Ala	Lys	Pro		Ala	ı.rp	Met	vai		THE	Giu	neu	vaı	
	355					360					365				•	
				ttg												1330
Ala	Gly	Leu	Leu	Leu	Gly	Phe	Val	Phe	Thr	Leu	Ser	His	Asn	Gly	Lys	
370					375					380					385	
gag	gtt	tac	aat	gaa	tcg	aag	gac	ttc	gtg	aga	gcc	cag	gtt	att	acc	1378
Glu	Val	Tyr	Asn	Glu	Ser	Lys	Asp	Phe	Val	Arg	Ala	Gln	Val	Ile	Thr	
				390					395					400		
acc	cat	aac	acc	aaq	cga	ggc	tgg	ttc	aac	gat	tgg	ttc	act	ggg	gga	1426
	_														Gly	
- + + 4	9		405		3	1		410	-	- 4-	•		415	•	-	
			300					0								

WO 03/093482 PCT/EP03/042													3/04297		
ctc gac	acc	cag	att	σaσ	cat	cac	cta	ttt	cca	aca	atg	ccc	agg	cac	1474
Leu Asp		_													
Dea .mp	420	04		011		425					430				
	420					100									
aac tac	ccc	aag	atc	gca	cct	cag	gtc	gag	gct	ctt	tgc	aag	aag	cac	1522
Asn Tyr	Pro	Lys	Ile	Ala	Pro	Gln	Val	Glu	Ala	Leu	Cys	Lys	Lys	His	
435					440					445					
ggc ctc	gag	tac	gat	aat	gtc	tcc	gtc	gtt	ggt	gcc	tct	gtc	gcg	gtt	1570
Gly Leu	Glu	Tyr	Asp	Asn	Val	Ser	Val	Val	Gly	Ala	Ser	Val	Ala	Val	
450				455					460					465	
gtg aag	gcg	ctc	aag	gaa	att	gct	gat	gaa	gcg	tca	att	cgg	ctt	cac	1618
Val Lys	Ala	Leu	Lys	Glu	Ile	Ala	Asp	Glu	Ala	Ser	Ile	Arg	Leu	His	
,			470					475					480		
gct cac	taa	gaaa	atcgi	tog a	aacti	ttgad	ct at	tcat	tttt	tto	egcci	tggc			1667
Ala His															
															•
tacctca	aat	gttc	gggag	gc ag	ggtgo	cttgg	gcag	gtgtg	gttc	aac	ggag	gcg (cacto	gaaaat	1727
gtgcaga	atc	catt	tccag	ga aa	attad	cati	c cc1	agct	caaa	tct	tctti	ttt a	acca	ggtcgg	1787
				-											
atatato	aaa .	cttt	tttga	at go	caaca	aagta	a gca	attca	aatt	gaag	gacai	ttg	ttcga	agatat	1847
-			_												
aattcgc	agt	gttt	ctati	tc ag	gegg	gcata	a cgt	tacta	agtc	cata	atcg	gcg (gttg	ccgaga	1907
	3	.				_	_								
gtttaca	tta	ttag	ttgg	ca c	aacga	agtag	g at	ctagi	tgta	aati	ttcta	att '	tccg	catgta	1967
300000															
atattac	tct	gaat	atat	ac c	gtta	tcta	t tti	tccta	aaaa	aaaa	aaaa	aaa a	aaaa	aaaaaa	2027
~					-										
aaaaaa	aaa	aaa													2040
					•									•	

<210> 8

<211> 483

<212> PRT

<213> Ceratodon purpureus

<400> 8

Met Ala Leu Val Thr Asp Phe Leu Asn Phe Leu Gly Thr Thr Trp Ser

1 5 10 15

Lys Tyr Ser Val Tyr Thr His Ser Tyr Ala Gly Asn Tyr Gly Pro Thr 20 25 30

Leu Lys His Ala Lys Lys Val Ser Ala Gln Gly Lys Thr Ala Gly Gln
35 40 45

Thr Leu Arg Gln Arg Ser Val Gln Asp Lys Lys Pro Gly Thr Tyr Ser 50 55 60

Leu Ala Asp Val Ala Ser His Asp Arg Pro Gly Asp Cys Trp Met Ile
65 70 75 80

Val Lys Glu Lys Val Tyr Asp Ile Ser Arg Phe Ala Asp Asp His Pro 85 90 95

Gly Gly Thr Val Ile Ser Thr Tyr Phe Gly Arg Asp Gly Thr Asp Val 100 105 110

Phe Ala Thr Phe His Pro Pro Ala Ala Trp Lys Gln Leu Asn Asp Tyr 115 120 125

Tyr Ile Gly Asp Leu Ala Arg Glu Glu Pro Leu Asp Glu Leu Leu Lys 130 135 140

Asp Tyr Arg Asp Met Arg Ala Glu Phe Val Arg Glu Gly Leu Phe Lys
145 150 155 160

Ser Ser Lys Ala Trp Phe Leu Leu Gln Thr Leu Ile Asn Ala Ala Leu 165 170 175

Phe Ala Ala Ser Ile Ala Thr Ile Cys Tyr Asp Lys Ser Tyr Trp Ala 180 185 190

Ile Val Leu Ser Ala Ser Leu Met Gly Leu Phe Val Gln Gln Cys Gly
195 200 205

Trp Leu Ala His Asp Phe Leu His Gln Gln Val Phe Glu Asn Arg Thr

210 215 220

Ala Asn Ser Phe Phe Gly Tyr Leu Phe Gly Asn Cys Val Leu Gly Phe 225 230 235 240

Ser Val Ser Trp Trp Arg Thr Lys His Asn Ile His His Thr Ala Pro 245 250 255

Asn Glu Cys Asp Glu Gln Tyr Thr Pro Leu Asp Glu Asp Ile Asp Thr 260 265 270

Leu Pro Ile Ile Ala Trp Ser Lys Glu Ile Leu Ala Thr Val Glu Ser 275 280 285

Lys Arg Ile Leu Arg Val Leu Gln Tyr Gln His Tyr Met Ile Leu Pro 290 295 300

Leu Leu Phe Met Ala Arg Tyr Ser Trp Thr Phe Gly Ser Leu Leu Phe 305 310 315 320

Thr Phe Asn Pro Asp Leu Ser Thr Thr Lys Gly Leu Ile Glu Lys Gly 325 330 335

Thr Val Ala Phe His Tyr Ala Trp Phe Ser Trp Ala Ala Phe His Ile 340 345 350

Leu Pro Gly Val Ala Lys Pro Leu Ala Trp Met Val Ala Thr Glu Leu 355 360 365

Val Ala Gly Leu Leu Gly Phe Val Phe Thr Leu Ser His Asn Gly 370 375 380

Lys Glu Val Tyr Asn Glu Ser Lys Asp Phe Val Arg Ala Gln Val Ile 385 390 395 400

Thr Thr Arg Asn Thr Lys Arg Gly Trp Phe Asn Asp Trp Phe Thr Gly
405 410 415

Gly Leu Asp Thr Gln Ile Glu His His Leu Phe Pro Thr Met Pro Arg
420 425 430

His Asn Tyr Pro Lys Ile Ala Pro Gln Val Glu Ala Leu Cys Lys Lys 445 440 435

His Gly Leu Glu Tyr Asp Asn Val Ser Val Val Gly Ala Ser Val Ala 460 455 450

Val Val Lys Ala Leu Lys Glu Ile Ala Asp Glu Ala Ser Ile Arg Leu 480 470 475 465

His Ala His

<210> 9

<211> 1467

<212> DNA

<213> Ceratodon purpureus

<220>

<221> CDS

<222> (10)..(1461)

<223> Delta-6-Desaturase

<400> 9

ggatccaaa atg gcc ctc gtt acc gac ttt ctg aac ttt ctg ggc acg aca 51 Met Ala Leu Val Thr Asp Phe Leu Asn Phe Leu Gly Thr Thr 10 5 1

tgg agc aag tac agc gtg tac acc cat agc tat gct gga aac tat ggg Trp Ser Lys Tyr Ser Val Tyr Thr His Ser Tyr Ala Gly Asn Tyr Gly 25 20 15

cct act ttg aag cac gcc aaa aag gtt tct gct caa ggt aaa act gcg 147 Pro Thr Leu Lys His Ala Lys Lys Val Ser Ala Gln Gly Lys Thr Ala 45 40 35

gga cag aca ctg aga cag aga tcg gtg cag gac aaa aag cca ggc act 195 Gly Gln Thr Leu Arg Gln Arg Ser Val Gln Asp Lys Lys Pro Gly Thr 60 55 50

\	VO 03	/0934	82						,	22				P	CT/EI	P03/042
	tct				~++	~at	tat	C2C			cct	aaa	gac	tac	taa	243
	Ser															
Tyr	ser		Ala	ASP	Val	MIG	70	птэ	Asp	ALG	FIU	75	-wp	0,0		
		65					70					, ,				
atg	atc	gtc	aaa	gag	aag	gtg	tat	gat	att	agc	cgt	ttt	gcg	gac	gac	291
Met	Ile	Val	Lys	Glu	Lys	Val	Tyr	Asp	Ile	Ser	Arg	Phe	Ala	Asp	Asp	
	80					85					90					
cac	cct	gga	ggg	acg	gta	att	agc	acc	tac	ttt	ggg	cgg	gat	ggc	aca	339
His	Pro	Gly	Gly	Thr	Val	Ile	Ser	Thr	Tyr	Phe	Gly	Arg	Asp	Gly	Thr	
95					100					105					110	
gac	gtt	ttc	gca	aca	ttc	càt	cca	cct	gcc	gca	tgg	aag	caa	ctc	aat	387
	Val															
•				115					120					125		
	tac			~~~	~~~	a++	aat	200	~ 22	aaa	ccc	ctt	cat	gaa	tta	435
																15.
Asp	Tyr	ıyr		GIY	ASD	Den	WIG	135	GIU	GIU	FIO	пец	140	014	Dea	
			130					133					140			
	aaa															483
Leu	Lys	Asp	Tyr	Arg	Asp	Met	Arg	Ala	Glu	Phe	Val		Glu	GIY	Leu	
		145					150					155				
ttc	aag	agt	tcc	aag	gcc	tgg	ttc	ctg	ctt	cag	act	ctg	att	aat	gca	531
Phe	Lys	Ser	Ser	Lys	Ala	Trp	Phe	Leu	Leu	Gln	Thr	Leu	Ile	Asn	Ala	
	160					165					170					
gct	ctc	ttt	gct	gcg	agc	att	gcg	act	atc	tgt	tac	gac	aag	agt	tac	579
Ala	Leu	Phe	Ala	Ala	Ser	Ile	Ala	Thr	Ile	Cys	Tyr	Asp	Lys	Ser	Tyr	
175					180					185					190	
									_ •					 .	~~~	621
	gct															ŲŽ.
Trp	Ala	TTE	val			ATS	ser	ьeu	200	GTÀ	neu	File	AGT	205	9111	
				195					200					203		
tgt	gga	tgg	ctt	gcc	cat	gat	ttc	ctt	cat	caa	cag	gtc	ttt	gag	aac	67

Cys Gly Trp Leu Ala His Asp Phe Leu His Gln Gln Val Phe Glu Asn

cgt	acc	gcg	aac	tcc	ttc	ttt	ggc	tat	ttg	ttc	ggc	aat	tgc	gtg	ctt	723
Arg	Thr	Ala	Asn	Ser	Phe	Phe	Gly	Tyr	Leu	Phe	Gly	Asn	Cys	Val	Leu	
		225					230					235				
ggc	ttt	agt	gta	tca	tgg	tgg	agg	acg	aag	cac	aac	att	cat	cat	act	771
Gly	Phe	Ser	Val	Ser	Trp	Trp	Arg	Thr	Lys	His	Asn	lle	His	His	Thr	
	240					245					250					
gct	ccg	aat	gag	tgc	gac	gaa	cag	tac	aca	cct	cta	gac	gaa	gac	att	819
Ala	Pro	Asn	Glu	Cys	Asp	Glu	Gln	Tyr	Thr	Pro	Leu	Asp	Glu	Asp	Ile	
255					260					265					270	
gat	act	ctc	ccc	atc	att	gcc	tgg	agc	aag	gaa	att	ttg	gcc	acc	gtt	867
Asp	Thr	Leu	Pro	Ile	Ile	Ala	Trp	Ser	Lys	Glu	Ile	Leu	Ala	Thr	Val	
				275					280					285		
gag	agc	aag	aga	att	ttg	cga	gtg	ctt	caa	tat	cag	cac	tac	atg	att	915
Glu	Ser	Lys	Arg	Ile	Leu	Arg	Val	Leu	Gln	Tyr	Gln	His	Tyr	Met	Ile	
			290					295					300			
											•					
ctg	cct	cta	ttg	ttc	atg	gcc	cgg	tac	agt	tgg	act	ttt	gga	agt	ttg	963
														Ser		
		305					310					315				
ctc	ttc	aca	ttc	aat	cct	gat	ttg	agc	acg	acc	aag	gga	ttg	ata	gag	1011
Leu	Phe	Thr	Phe	Asn	Pro	Asp	Leu	Ser	Thr	Thr	Lys	Gly	Leu	Ile	Glu	
	320					325					330					
aag	gga	aca	gtt	gct	ttt	cac	tac	gcc	tgg	ttc	agt	tgg	gct	gcg	ttc	1059
Lys	Gly	Thr	Val	Ala	Phe	His	Tyr	Ala	Trp	Phe	Ser	Trp	Ala	Ala	Phe	
335					340					345					350	
cat	att	ttg	ccg	ggt	gtc	gct	aag	cct	ctt	gcg	tgg	atg	gta	gca	act	1107
														Ala		
				355					360					365		
gag	ctt	gtg	gcc	ggt	ttg	ttg	ttg	gga	ttc	gtg	ttt	acg	ttg	agt	cac	1155
														Ser		
			370					375					380			

WU 03/093482		24	PC 1/EP03/04297
aat gga aag gag	gtt tac aat ga	aa tcg aag gac ttc (rtg aga gcc cag 1203
		lu Ser Lys Asp Phe V	
385			395
gtt att acc acc	cgt aac acc a	ag cga ggc tgg ttc a	ac gat tgg ttc 1251
Val Ile Thr Thr	Arg Asn Thr Ly	ys Arg Gly Trp Phe A	Asn Asp Trp Phe
400	405	410	
		tt gag cat cac ctg 1	
Thr Gly Gly Leu	Asp Thr Gln I	le Glu His His Leu I	Phe Pro Thr Met
415	420	425	430
		to goa cot cag gto	
Pro Arg His Asn		le Ala Pro Gln Val (
	435	440	445
			1305
		at aat gtc tcc gtc	
	Leu Glu Tyr As	sp Asn Val Ser Val v 455	460
450		400	400
ata aca att ata	מפת מכת כדכ מי	ag gaa att gct gat (raa gcg tca att 1443
		ys Glu Ile Ala Asp (
465			175
	_		
cgg ctt cac gct	cac taa gtcga	c	1467
Arg Leu His Ala			
480			
		•	
<210> 10			
<211> 483			
<212> PRT			
<213> Ceratodon	purpureus		
<400> 10			man and a second
Met Ala Leu Val		eu Asn Phe Leu Gly	
1	5	10	15

Lys Tyr Ser Val Tyr Thr His Ser Tyr Ala Gly Asn Tyr Gly Pro Thr

25

20

30 ·

PCT/EP03/04297

WO 03/093482

PCT/EP03/04297

Leu Lys His Ala Lys Lys Val Ser Ala Gln Gly Lys Thr Ala Gly Gln

Thr Leu Arg Gln Arg Ser Val Gln Asp Lys Lys Pro Gly Thr Tyr Ser . 55

Leu Ala Asp Val Ala Ser His Asp Arg Pro Gly Asp Cys Trp Met Ile

Val Lys Glu Lys Val Tyr Asp Ile Ser Arg Phe Ala Asp Asp His Pro

Gly Gly Thr Val Ile Ser Thr Tyr Phe Gly Arg Asp Gly Thr Asp Val

Phe Ala Thr Phe His Pro Pro Ala Ala Trp Lys Gln Leu Asn Asp Tyr

Tyr Ile Gly Asp Leu Ala Arg Glu Glu Pro Leu Asp Glu Leu Leu Lys

Asp Tyr Arg Asp Met Arg Ala Glu Phe Val Arg Glu Gly Leu Phe Lys

Ser Ser Lys Ala Trp Phe Leu Leu Gln Thr Leu Ile Asn Ala Ala Leu

Phe Ala Ala Ser Ile Ala Thr Ile Cys Tyr Asp Lys Ser Tyr Trp Ala

Ile Val Leu Ser Ala Ser Leu Met Gly Leu Phe Val Gln Gln Cys Gly

Trp Leu Ala His Asp Phe Leu His Gln Gln Val Phe Glu Asn Arg Thr

Ala Asn Ser Phe Phe Gly Tyr Leu Phe Gly Asn Cys Val Leu Gly Phe

26

Ser Val Ser Trp Trp Arg Thr Lys His Asn Ile His His Thr Ala Pro 245 250 255

Asn Glu Cys Asp Glu Gln Tyr Thr Pro Leu Asp Glu Asp Ile Asp Thr 260 265 270

Leu Pro Ile Ile Ala Trp Ser Lys Glu Ile Leu Ala Thr Val Glu Ser 275 280 285

Lys Arg Ile Leu Arg Val Leu Gln Tyr Gln His Tyr Met Ile Leu Pro 290 295 300

Leu Leu Phe Met Ala Arg Tyr Ser Trp Thr Phe Gly Ser Leu Leu Phe 305 310 315 320

Thr Phe Asn Pro Asp Leu Ser Thr Thr Lys Gly Leu Ile Glu Lys Gly 325 330 335

Thr Val Ala Phe His Tyr Ala Trp Phe Ser Trp Ala Ala Phe His Ile 340 345 350

Leu Pro Gly Val Ala Lys Pro Leu Ala Trp Met Val Ala Thr Glu Leu 355 360 365

Val Ala Gly Leu Leu Gly Phe Val Phe Thr Leu Ser His Asn Gly 370 375 380

Lys Glu Val Tyr Asn Glu Ser Lys Asp Phe Val Arg Ala Gln Val Ile 385 390 395 400

Thr Thr Arg Asn Thr Lys Arg Gly Trp Phe Asn Asp Trp Phe Thr Gly
405 410 415

Gly Leu Asp Thr Gln Ile Glu His His Leu Phe Pro Thr Met Pro Arg
420 425 430

His Asn Tyr Pro Lys Ile Ala Pro Gln Val Glu Ala Leu Cys Lys Lys 435 440 445

His Gly Leu Glu Tyr Asp Asn Val Ser Val Val Gly Ala Ser Val Ala

450 455 460

Val Val Lys Ala Leu Lys Glu Ile Ala Asp Glu Ala Ser Ile Arg Leu 465 470 475 480

His Ala His

<210> 11

<211> 2160

<212> DNA

<213> Ceratodon purpureus

<220>.

<221> CDS

<222> (159)..(1721)

<223> Delta-6-Desaturase.

<400> 11

cggaggtctc ttgtcgttct tggagtctgt gtcgagcttg gaatgcggta ggcgcggccg 60

tttcgtggtt ttggcgttgg cattgcgcga gggcggacag tgggagtgcg ggaggtctgt 120

ttgtgcatga cgaggtggtt gtaatcttcg ccggcaga atg gtg tcc cag ggc ggc 176 Met Val Ser Gln Gly Gly

1 5

ggt ctc tcg cag ggt tcc att gaa gaa aac att gac gtt gag cac ttg 224
Gly Leu Ser Gln Gly Ser Ile Glu Glu Asn Ile Asp Val Glu His Leu
10 15 20

gca acg atg ccc ctc gtc agt gac ttc cta aat gtc ctg gga acg act 272
Ala Thr Met Pro Leu Val Ser Asp Phe Leu Asn Val Leu Gly Thr Thr
25 30 35

ttg ggc cag tgg agt ctt tcc act aca ttc gct ttc aag agg ctc acg 320 Leu Gly Gln Trp Ser Leu Ser Thr Thr Phe Ala Phe Lys Arg Leu Thr 40 45 50

act aag aaa cac agt tcg gac atc tcg gtg gag gca caa aaa gaa tcg 368

,	WO 0	3/0934	82						:	28 -				F	CT/EP	3/04297
Thr	Lys	Lys	His	Ser	Ser	Asp	Ile	Ser	Val	Glu	Ala	Gln	Lys	Glu	Ser	
55					60					65					70	
gtt	gcg	cgg	ggg	cca	gtt	gag	aat	att	tct	caa	tcg	gtt	gcg	cag	ccc	416
Val	Ala	Arg	Gly	Pro	Val	Glu	Asn	Ile	Ser	${\tt Gln}$	Ser	Val	Ala	Gln	Pro	

80

85

atc agg cgg agg tgg gtg cag gat aaa aag ccg gtt act tac agc ctg

1le Arg Arg Arg Trp Val Gln Asp Lys Lys Pro Val Thr Tyr Ser Leu

90

95

100

aag gat gta gct tcg cac gat atg ccc cag gac tgc tgg att ata atc 512

Lys Asp Val Ala Ser His Asp Met Pro Gln Asp Cys Trp Ile Ile Ile

105 110 115

aaa gag aag gtg tat gat gtg agc acc ttc gct gag cag cac cct gga 560
Lys Glu Lys Val Tyr Asp Val Ser Thr Phe Ala Glu Gln His Pro Gly
120 125 130

ggc acg gtt atc aac acc tac ttc gga cga gac gcc aca gat gtt ttc 608 Gly Thr Val Ile Asn Thr Tyr Phe Gly Arg Asp Ala Thr Asp Val Phe 135 140 145 150

tct act ttc cac gca tcc acc tca tgg aag att ctt cag aat ttc tac 656
Ser Thr Phe His Ala Ser Thr Ser Trp Lys Ile Leu Gln Asn Phe Tyr
155 160 165

atc ggg aac ctt gtt agg gag gag ccg act ttg gag ctg ctg aag gag 704

Ile Gly Asn Leu Val Arg Glu Glu Pro Thr Leu Glu Leu Leu Lys Glu

170 175 180

tac aga gag ttg aga gcc ctt ttc ttg aga gaa cag ctt ttc aag agt 752

Tyr Arg Glu Leu Arg Ala Leu Phe Leu Arg Glu Gln Leu Phe Lys Ser

185 190 195

tcc aaa tcc tac tac ctt ttc aag act ctc ata aat gtt tcc att gtt 800
Ser Lys Ser Tyr Tyr Leu Phe Lys Thr Leu Ile Asn Val Ser Ile Val
200 205 210

gcc aca agc att gcg ata atc agt ctg tac aag tct tac cgg gcg gtt 848

Ala Thr Ser Ile Ala Ile Ile Ser Leu Tyr Lys Ser Tyr Arg Ala Val ctg tta tca gcc agt ttg atg ggc ttg ttt att caa cag tgc gga tgg Leu Leu Ser Ala Ser Leu Met Gly Leu Phe Ile Gln Gln Cys Gly Trp ttg tct cac gat ttt cta cac cat cag gta ttt gag aca cgc tgg ctc Leu Ser His Asp Phe Leu His His Gln Val Phe Glu Thr Arg Trp Leu aat gac gtt gtt ggc tat gtg gtc ggc aac gtt gtt ctg gga ttc agt Asn Asp Val Val Gly Tyr Val Val Gly Asn Val Val Leu Gly Phe Ser gtc tcg tgg tgg aag acc aag cac aac ctg cat cat gct gct ccg aat Val Ser Trp Trp Lys Thr Lys His Asn Leu His His Ala Ala Pro Asn gaa tgc gac caa aag tac aca ccg att gat gag gat att gat act ctc Glu Cys Asp Gln Lys Tyr Thr Pro Ile Asp Glu Asp Ile Asp Thr Leu ccc atc att gct tgg agt aaa gat ctc ttg gcc act gtt gag agc aag Pro Ile Ile Ala Trp Ser Lys Asp Leu Leu Ala Thr Val Glu Ser Lys acc atg ttg cga gtt ctt cag tac cag cac cta ttc ttt ttg gtt ctt Thr Met Leu Arg Val Leu Gln Tyr Gln His Leu Phe Phe Leu Val Leu ttg acg ttt gcc cgg gcg agt tgg cta ttt tgg agc gcg gcc ttc act Leu Thr Phe Ala Arg Ala Ser Trp Leu Phe Trp Ser Ala Ala Phe Thr ctc agg ccc gag ttg acc ctt ggc gag aag ctt ttg gag agg gga acg Leu Arg Pro Glu Leu Thr Leu Gly Glu Lys Leu Leu Glu Arg Gly Thr atg gct ttg cac tac att tgg ttt aat agt gtt gcg ttt tat ctg ctc

WO 03/093482		30	PCT/EP03/04297
			Tur Ion Ion
Met Ala Leu His '	_	e Asn Ser Val Ala Phe	
375	380	385	390
		g atg gtg gtc agc gag	
Pro Gly Trp Lys	Pro Val Val Trp	Met Val Val Ser Glu	
	395	400	405
		gta ctc agt cac aat	
Gly Phe Leu Leu	Gly Tyr Val Phe	e Val Leu Ser His Asn	Gly Met Glu
410		415	420
gtg tac aat acg	tca aag gac tto	gtg aat gcc cag att	gca tcg act 1472
Val Tyr Asn Thr	Ser Lys Asp Phe	e Val Asn Ala Gln Ile	Ala Ser Thr
425	430	435	
cgc gac atc aaa	gca ggg gtg ttt	aat gat tgg ttc acc	gga ggt ctc 1520
Arg Asp Ile Lys	Ala Gly Val Phe	Asn Asp Trp Phe Thr	Gly Gly Leu
440	445	450	
		,	
aac aga cag att	gag cat cat cta	a ttt cca acg atg ccc	agg cac aac 1568
		Phe Pro Thr Met Pro	
455	460	465	470
ctt aat aaa att	tot cot cac gtg	g gag act ttg tgc aag	aag cat gga 1616
		l Glu Thr Leu Cys Lys	
	475	480	485
cta atc tac gaa	dac oto ago ato	g gct tcg ggc act tac	cgg gtt ttg 1664
		t Ala Ser Gly Thr Tyr	
490	nop var ber no	495	500
430			
aaa ace off aas	dac att dec dat	t gct gct tca cac cag	cag ctt gct 1712
		p Ala Ala Ser His Glņ	
_	Asp val Ala Asj	_	
505	510	Ç 313	

tgttcatatg tgatcgaggg gaaaaggtcc catgctctga tctattcttc tgtagccaat 1821

gcg agt tga ggcatcgcag cactcgtcga aacatttttg tctgttatag 1761

Ala Ser 520 ·

atttttaat tgaaaggagg ttcctcactt atcttccatc tatcgttgca catcctgcat 1881

cagagttagc gttggagtaa tgttaagcac ttgtagatta tgcccaccat tgccacattt 1941

ctgttcggtt acaatcgttt gattccatgc tatcctccgt gttcatctcg ttgttataag 2001

caagcttgaa aaaacatgct acgagattgg cagacgttgt cttggcagct gtagaggttg 2061

gttccattca ttgtgtagta cagaactctc tcgtccctgt ttctctacat tacttgttac 2121

atagtgactt tcattcacag caaaaaaaaa aaaaaaaaa 2160

<210> 12

<211> 520

<212> PRT

<213> Ceratodon purpureus

<400> 12

Met Val Ser Gln Gly Gly Gly Leu Ser Gln Gly Ser Ile Glu Glu Asn

1 5 10 15

Ile Asp Val Glu His Leu Ala Thr Met Pro Leu Val Ser Asp Phe Leu 20 25 30

Asn Val Leu Gly Thr Thr Leu Gly Gln Trp Ser Leu Ser Thr Thr Phe
35 40 45

Ala Phe Lys Arg Leu Thr Thr Lys Lys His Ser Ser Asp Ile Ser Val
50 55 60

Glu Ala Gln Lys Glu Ser Val Ala Arg Gly Pro Val Glu Asn Ile Ser
65 70 75 80

Gln Ser Val Ala Gln Pro Ile Arg Arg Trp Val Gln Asp Lys Lys 85 90 95

Pro Val Thr Tyr Ser Leu Lys Asp Val Ala Ser His Asp Met Pro Gln
100 105 110

Asp Cys Trp Ile Ile Ile Lys Glu Lys Val Tyr Asp Val Ser Thr Phe 115 120 125

Ala Glu Gln His Pro Gly Gly Thr Val Ile Asn Thr Tyr Phe Gly Arg 130 135 140

Asp Ala Thr Asp Val Phe Ser Thr Phe His Ala Ser Thr Ser Trp Lys 145 150 150 155 160

Ile Leu Gln Asn Phe Tyr Ile Gly Asn Leu Val Arg Glu Glu Pro Thr
165 170 175

Leu Glu Leu Lys Glu Tyr Arg Glu Leu Arg Ala Leu Phe Leu Arg 180 185 190

Glu Gln Leu Phe Lys Ser Ser Lys Ser Tyr Tyr Leu Phe Lys Thr Leu

195 200 205

Ile Asn Val Ser Ile Val Ala Thr Ser Ile Ala Ile Ile Ser Leu Tyr 210 215 220

Lys Ser Tyr Arg Ala Val Leu Leu Ser Ala Ser Leu Met Gly Leu Phe 225 230 235 240

Ile Gln Gln Cys Gly Trp Leu Ser His Asp Phe Leu His His Gln Val 245 250 255

Phe Glu Thr Arg Trp Leu Asn Asp Val Val Gly Tyr Val Val Gly Asn 260 265 270

Val Val Leu Gly Phe Ser Val Ser Trp Trp Lys Thr Lys His Asn Leu 275 280 285

His His Ala Ala Pro Asn Glu Cys Asp Gln Lys Tyr Thr Pro Ile Asp 290 295 300

Glu Asp Ile Asp Thr Leu Pro Ile Ile Ala Trp Ser Lys Asp Leu Leu 305 310 315 320

33

Ala Thr Val Glu Ser Lys Thr Met Leu Arg Val Leu Gln Tyr Gln His 325 330 335

Leu Phe Phe Leu Val Leu Leu Thr Phe Ala Arg Ala Ser Trp Leu Phe 340 345 350

Trp Ser Ala Ala Phe Thr Leu Arg Pro Glu Leu Thr Leu Gly Glu Lys
355 360 365

Leu Leu Glu Arg Gly Thr Met Ala Leu His Tyr Ile Trp Phe Asn Ser 370 375 380

Val Ala Phe Tyr Leu Leu Pro Gly Trp Lys Pro Val Val Trp Met Val 385 390 395 400

Val Ser Glu Leu Met Ser Gly Phe Leu Leu Gly Tyr Val Phe Val Leu 405 410 415

Ser His Asn Gly Met Glu Val Tyr Asn Thr Ser Lys Asp Phe Val Asn 420 425 430

Ala Gln Ile Ala Ser Thr Arg Asp Ile Lys Ala Gly Val Phe Asn Asp
435
440
445

Trp Phe Thr Gly Gly Leu Asn Arg Gln Ile Glu His His Leu Phe Pro 450 455 460

Thr Met Pro Arg His Asn Leu Asn Lys Ile Ser Pro His Val Glu Thr 465 470 475 480

Leu Cys Lys Lys His Gly Leu Val Tyr Glu Asp Val Ser Met Ala Ser
485 490 495

Gly Thr Tyr Arg Val Leu Lys Thr Leu Lys Asp Val Ala Asp Ala Ala 500 505 510

Ser His Gln Gln Leu Ala Ala Ser 515 520

PCT/EP03/04297

<210> 13

<211> 1434

<212> DNA

<213> Phaeodactylum tricornutum

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1434)

<223> Delta-6-Desaturase

<400> 13

atg ggc aaa gga ggg gac gct cgg gcc tcg aag ggc tca acg gcg gct 48 Met Gly Lys Gly Gly Asp Ala Arg Ala Ser Lys Gly Ser Thr Ala Ala 10 5 1

cgc aag atc agt tgg cag gaa gtc aag acc cac gcg tct ccg gag gac Arg Lys Ile Ser Trp Gln Glu Val Lys Thr His Ala Ser Pro Glu Asp 30 20 25

gcc tgg atc att cac tcc aat aag gtc tac gac gtg tcc aac tgg cac 144 Ala Trp Ile Ile His Ser Asn Lys Val Tyr Asp Val Ser Asn Trp His 40 45 35

gaa cat ccc gga ggc gcc gtc att ttc acg cac gcc ggt gac gac atg 192 Glu His Pro Gly Gly Ala Val Ile Phe Thr His Ala Gly Asp Asp Met 60 55 50

acg gac att ttc gct gcc ttt cac gca ccc gga tcg cag tcg ctc atg 240 Thr Asp Ile Phe Ala Ala Phe His Ala Pro Gly Ser Gln Ser Leu Met 80 70 75 65

aag aag tto tac att ggc gaa ttg ctc ccg gaa acc acc ggc aag gag Lys Lys Phe Tyr Ile Gly Glu Leu Leu Pro Glu Thr Thr Gly Lys Glu 95 90 85

ccg cag caa atc gcc ttt gaa aag ggc tac cgc gat ctg cgc tcc aaa Pro Gln Gln Ile Ala Phe Glu Lys Gly Tyr Arg Asp Leu Arg Ser Lys 110 105 100

ctc atc atg atg ggc atg ttc aag tcc aac aag tgg ttc tac gtc tac

35

Leu	Ile	Met	Met	Gly	Met	Phe	Lys	Ser	Asn	Lys	Trp	Phe	Tyr	Val	Tyr	
		115					120					125				
aag	tgc	ctc	agc	aac	atg	gcc	att	tgg	gcc	gcc	gcc	tgt	gct	ctc	gtc	432
Lys	Cys	Leu	Ser	Asn	Met	Ala	Ile	Trp	Ala	Ala	Ala	Cys	Ala	Leu	Val	
_	130					135					140					
ttt	tac	tca	gac	cgc	ttc	tgg	gta	cac	ctg	gcc	agc	gcc	gtc	atg	ctg	480
					Phe											
145			-	Ū	150	_				155					160	
ааа	aca	ttc	ttt	cag	cag	tca	ασa	taa	tta	qca	cac	gac	ttt	ctg	cac	528
-					Gln											
GLY	****	1110	1110	165			1		170			•		175		
				103												
	~~~	~+ a	tta	200	aag	cac	aar	cac	aaa	gat	ctc	gga	gga	ctc	ttt	576
					Lys											
HIS	GIN	vaı		THE	гуу	ALG	пĵэ	185	Gly	rsp.	Deu	013	190	200		
			180	·				100					190			
														226	224	624
	-				cag											024
Trp	Gly		Leu	Met	Gln	Gly		Ser	Val	GIn	Trp		rys	Asn	гуs	
		195					200					205				
																650
					gcc											672
His	Asn	Gly	His	His	Ala		Pro	Asn	Leu	His		Ser	Ser	Ala	Vai	
	210					215					220					
					ccg										tgg	720
Ala	Gln	Asp	Gly	Asp	Pro	Asp	Ile	Asp	Thr	Met	Pro	Leu	Leu	Ala	Trp	
225					230					235					240	
tcc	gtc	cag	caa	gcc	cag	tct	tac	cgg	gaa	ctc	caa	gcc	gac	gga	aag	768
Ser	Val	Gln	Gln	Ala	Gln	Ser	Tyr	Arg	Glu	Leu	Gln	Ala	Asp	Gly	Lys	
				245					250					255		
gat	tcg	ggt	ttg	gtc	aag	ttc	atg	atc	cgt	aac	caa	tcc	tac	ttt	tac	816
Asp	Ser	Gly	Leu	Val	Lys	Phe	Met	Ile	Arg	Asn	Gln	Ser	Tyr	Phe	Tyr	
			260					265					270			
ttt	ccc	atc	ttg	ttg	ctc	gcc	cgc	ctg	tcg	tgg	ttg	aac	gag	tcc	ttc	864

Phe Pro Ile Leu Leu Leu Ala Arg Leu Ser Trp Leu Asn Glu Ser Phe 275 280 285

aag tgc gcc ttt ggg ctt gga gct gcg tcg gag aac gct gct ctc gaa 912 Lys Cys Ala Phe Gly Leu Gly Ala Ala Ser Glu Asn Ala Ala Leu Glu 290 295 300

ctc aag gcc aag ggt ctt cag tac ccc ctt ttg gaa aag gct ggc atc 960
Leu Lys Ala Lys Gly Leu Gln Tyr Pro Leu Leu Glu Lys Ala Gly Ile
305 310 315 320

ctg ctg cac tac gct tgg atg ctt aca gtt tcg tcc ggc ttt gga cgc 1008

Leu Leu His Tyr Ala Trp Met Leu Thr Val Ser Ser Gly Phe Gly Arg

325 330 335

ttc tcg ttc gcg tac acc gca ttt tac ttt cta acc gcg acc gcg tcc 1056

Phe Ser Phe Ala Tyr Thr Ala Phe Tyr Phe Leu Thr Ala Thr Ala Ser

340 345 350

tgt gga ttc ttg ctc gcc att gtc ttt ggc ctc ggc cac aac ggc atg 1104 Cys Gly Phe Leu Leu Ala Ile Val Phe Gly Leu Gly His Asn Gly Met 355 360 365

gcc acc tac aat gcc gac gcc cgt ccg gac ttc tgg aag ctc caa gtc 1152
Ala Thr Tyr Asn Ala Asp Ala Arg Pro Asp Phe Trp Lys Leu Gln Val
370 375 380

acc acg act cgc aac gtc acg ggc gga cac ggt ttc ccc caa gcc ttt 1200
Thr Thr Thr Arg Asn Val Thr Gly Gly His Gly Phe Pro Gln Ala Phe
385 390 395 400

gtc gac tgg ttc tgt ggt ggc ctc cag tac caa gtc gac cac cac tta 1248

Val Asp Trp Phe Cys Gly Gly Leu Gln Tyr Gln Val Asp His His Leu

405 410 415

ttc ccc agc ctg ccc cga cac aat ctg gcc aag aca cac gca ctg gtc 1296

Phe Pro Ser Leu Pro Arg His Asn Leu Ala Lys Thr His Ala Leu Val
420 425 430

gaa tcg ttc tgc aag gag tgg ggt gtc cag tac cac gaa gcc gac ctt 1344

Glu Ser Phe Cys Lys Glu Trp Gly Val Gln Tyr His Glu Ala Asp Leu 

gtg gac ggg acc atg gaa gtc ttg cac cat ttg ggc agc gtg gcc ggc Val Asp Gly Thr Met Glu Val Leu His His Leu Gly Ser Val Ala Gly 

gaa ttc gtc gtg gat ttt gta cgc gat gga ccc gcc atg taa Glu Phe Val Val Asp Phe Val Arg Asp Gly Pro Ala Met 

<210> 14

<211> 477

<212> PRT

<213> Phaeodactylum tricornutum

<400> 14

Met Gly Lys Gly Gly Asp Ala Arg Ala Ser Lys Gly Ser Thr Ala Ala 

Arg Lys Ile Ser Trp Gln Glu Val Lys Thr His Ala Ser Pro Glu Asp 

Ala Trp Ile Ile His Ser Asn Lys Val Tyr Asp Val Ser Asn Trp His 

Glu His Pro Gly Gly Ala Val Ile Phe Thr His Ala Gly Asp Asp Met 

Thr Asp Ile Phe Ala Ala Phe His Ala Pro Gly Ser Gln Ser Leu Met 

Lys Lys Phe Tyr Ile Gly Glu Leu Leu Pro Glu Thr Thr Gly Lys Glu 

Pro Gln Gln Ile Ala Phe Glu Lys Gly Tyr Arg Asp Leu Arg Ser Lys 

Leu Ile Met Met Gly Met Phe Lys Ser Asn Lys Trp Phe Tyr Val Tyr

115 120 125

Lys Cys Leu Ser Asn Met Ala Ile Trp Ala Ala Ala Cys Ala Leu Val 130 135 140

Phe Tyr Ser Asp Arg Phe Trp Val His Leu Ala Ser Ala Val Met Leu 145 150 155 160

Gly Thr Phe Phe Gln Gln Ser Gly Trp Leu Ala His Asp Phe Leu His
165 170 175

His Gln Val Phe Thr Lys Arg Lys His Gly Asp Leu Gly Gly Leu Phe 180 185 190

Trp Gly Asn Leu Met Gln Gly Tyr Ser Val Gln Trp Trp Lys Asn Lys 195 200 205

His Asn Gly His His Ala Val Pro Asn Leu His Cys Ser Ser Ala Val 210 215 220

Ala Gln Asp Gly Asp Pro Asp Ile Asp Thr Met Pro Leu Leu Ala Trp
225 230 235 240

Ser Val Gln Gln Ala Gln Ser Tyr Arg Glu Leu Gln Ala Asp Gly Lys 245 250 255

Asp Ser Gly Leu Val Lys Phe Met Ile Arg Asn Gln Ser Tyr Phe Tyr 260 265 270

Phe Pro Ile Leu Leu Leu Ala Arg Leu Ser Trp Leu Asn Glu Ser Phe 275 280 285

Lys Cys Ala Phe Gly Leu Gly Ala Ala Ser Glu Asn Ala Ala Leu Glu 290 295 300

Leu Lys Ala Lys Gly Leu Gln Tyr Pro Leu Leu Glu Lys Ala Gly Ile 305 310 315 320

Leu Leu His Tyr Ala Trp Met Leu Thr Val Ser Ser Gly Phe Gly Arg
325 330 335

Phe Ser Phe Ala Tyr Thr Ala Phe Tyr Phe Leu Thr Ala Thr Ala Ser 340 345 350

Cys Gly Phe Leu Leu Ala Ile Val Phe Gly Leu Gly His Asn Gly Met 355 360 365

Ala Thr Tyr Asn Ala Asp Ala Arg Pro Asp Phe Trp Lys Leu Gln Val 370 375 380

Thr Thr Thr Arg Asn Val Thr Gly Gly His Gly Phe Pro Gln Ala Phe 385 390 395 400

Val Asp Trp Phe Cys Gly Gly Leu Gln Tyr Gln Val Asp His His Leu 405 410 415

Phe Pro Ser Leu Pro Arg His Asn Leu Ala Lys Thr His Ala Leu Val
420 425 430

Glu Ser Phe Cys Lys Glu Trp Gly Val Gln Tyr His Glu Ala Asp Leu 435 440 445

Val Asp Gly Thr Met Glu Val Leu His His Leu Gly Ser Val Ala Gly
450 455 460

Glu Phe Val Val Asp Phe Val Arg Asp Gly Pro Ala Met 465 470 475

<210> 15

<211> 1563

<212> DNA

<213> Ceratodon purpureus

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1563)

<223> Delta-6-Desaturase

<400> 15

atg	gtg	tcc	cag	ggc	ggc	ggt	ctc	tcg	cag	ggt	tcc	att	gaa	gaa	aac	48
Met	Val	Ser	Gln	Gly	Gly	Gly	Leu	Ser	Gln	Gly	Ser	Ile	Glu	Glu	Asn	
1				5					10					15		
att	gac	gtt	gag	cac	ttg	gca	acg	atg	ccc	ctc	gtc	agt	gac	ttc	cta	96
Ile	Asp	Val	Glu	His	Leu	Ala	Thr	Met	Pro	Leu	Val	Ser	Asp	Phe	Leu	
			20					25					30			
•																
														aca		144
Asn	Val	Leu	Gly	Thr	Thr	Leu	Gly	Gln	Trp	Ser	Leu	Ser	Thr	Thr	Phe	
		35					40					45				
_														tcg		192
Ala	Phe	Lys	Arg	Leu	Thr	Thr	Lys	Lys	His	Ser	Ser	Asp	Ile	Ser	Val	
	50					55					60					
									-					att		240
Glu	Ala	Gln	Lys	Glu	Ser	Val	Ala	Arg	Gly	Pro	Val	Glu	Asn	Ile		
65					70					75					80	
																200
		-												aaa -		288
Gln	Ser	Val	Ala		Pro	Ile	Arg	Arg		Trp	Val	Gln	Asp	Lys	Lys	
				85					90					95		
			•										_ +			226
														CCC		336
Pro	Val	Thr		Ser	Leu	Lys	Asp		Ala	Ser	HIS	Asp		Pro	GIN	
			100					105					110			
											~~ t	~+~	200	200	ttc	384
														acc		J04
Asp	Cys		IIe	IIe	iie	Lys		ьуs	vaı	Tyr	ASD	125	261	Thr	FILE	
		115					120					123				
					~~~	~~~	200	att	atc	220	200	tac	ttc	aaa	cga	432
														Gly		
ATA		GIN	HIS	PIO	GIŞ		1111	Vai	116	ABII	140	-3-	11.0	013	9	
	130					135					7.45.0					
as c	acc	202	rat	att	ttc	tct	act	ttc	cac	gca	tec	acc	tca	taa	aag	480
_	_													Trp		
145		TIIT	vaħ	vul	150					155					160	

WO 03/093482

att ctt cag aat ttc tac atc ggg aac ctt gtt agg gag gag ccg act 528

Ile Leu Gln Asn Phe Tyr Ile Gly Asn Leu Val Arg Glu Glu Pro Thr

175

ttg gag ctg ctg aag gag tac aga gag ttg aga gcc ctt ttc ttg aga 576 Leu Glu Leu Lys Glu Tyr Arg Glu Leu Arg Ala Leu Phe Leu Arg 180 185 190

gaa cag ctt ttc aag agt tcc aaa tcc tac ttc ttc aag act ctc 624
Glu Gln Leu Phe Lys Ser Ser Lys Ser Tyr Tyr Leu Phe Lys Thr Leu

195
200
205

ata aat gtt tcc att gtt gcc aca agc att gcg ata atc agt ctg tac 672

Ile Asn Val Ser Ile Val Ala Thr Ser Ile Ala Ile Ile Ser Leu Tyr

210 215 220

aag tot tac ogg gog gtt otg tta toa goo agt ttg atg ggo ttg ttt 720
Lys Ser Tyr Arg Ala Val Leu Leu Ser Ala Ser Leu Met Gly Leu Phe
225 230 235 240

att caa cag tgc gga tgg ttg tct cac gat ttt cta cac cat cag gta 768

Ile Gln Gln Cys Gly Trp Leu Ser His Asp Phe Leu His His Gln Val

245 250 255

ttt gag aca cgc tgg ctc aat gac gtt gtt ggc tat gtg gtc ggc aac 816
Phe Glu Thr Arg Trp Leu Asn Asp Val Val Gly Tyr Val Val Gly Asn
260 265 270

gtt gtt ctg gga ttc agt gtc tcg tgg tgg aag acc aag cac aac ctg 864
Val Val Leu Gly Phe Ser Val Ser Trp Trp Lys Thr Lys His Asn Leu
275 280 285

cat cat gct gct ccg aat gaa tgc gac caa aag tac aca ccg att gat 912
His His Ala Ala Pro Asn Glu Cys Asp Gln Lys Tyr Thr Pro Ile Asp
290 295 300

gag gat att gat act ctc ccc atc att gct tgg agt aaa gat ctc ttg 960
Glu Asp Ile Asp Thr Leu Pro Ile Ile Ala Trp Ser Lys Asp Leu Leu
305 310 315 320

									4	42						
gcc	act	gtt	gag	agc	aag	acc	atg	ttg	cga	gtt	ctt	cag	tac	cag	cac	1008
Ala	Thr	Val	Glu	Ser	Lys	Thr	Met	Leu	Arg	Val	Leu	Gln	Tyr	Gln	His	
				325					330					335		
cta	ttc	ttt	ttg	gtt	ctt	ttg	acg	ttt	gcc	cgg	gcg	agt	tgg	cta	ttt	1056
Leu	Phe	Phe	Leu	Val	Leu	Leu	Thr	Phe	Ala	Arg	Ala	Ser	Trp	Leu	Phe	
			340					345					350			
tgg	agc	gcg	gcc	ttc	act	ctc	agg	ccc	gag	ttg	acc	ctt	ggc	gag	aag	1104
Trp	Ser	Ala	Ala	Phe	Thr	Leu	Arg	Pro	Glu	Leu	Thr	Leu	Gly	Glu	Lys	
		355					360					365				
ctt	ttg	gag	agg	gga	acg	atg	gct	ttg	cac	tac	att	tgg	ttt	aat	agt	1152
Leu	Leu	Glu	Arg	Gly	Thr	Met	Ala	Leu	His	Tyr	Ile	Trp	Phe	Asn	Ser	
	370					375					380					
gtt	gcg	ttt	tat	ctg	ctc	ccc	gga	tgg	aaa	cca	gtt	gta	tgg	atg	gtg	1200
Val	Ala	Phe	Tyr	Leu	Leu	Pro	Gly	Trp	Lys	Pro	Val	Val	Trp	Met	Val	
385					390					395					400	
gtc	agc	gag	ctc	atg	tct	ggt	ttc	ctg	ctg	gga	tac	gta	ttt	gta	ctc	1248
Val	Ser	Glu	Leu	Met	Ser	Gly	Phe	Leu	Leu	Gly	Tyr	Val	Phe	Val	Leu	
	•			405					410					415		
agt	cac	aat	gga	atg	gag	gtg	tac	aat	acg	tca	aag	gac	ttc	gtg	aat	1296
Ser	His	Asn	Gly	Met	Glu	Val	Tyr	Asn	Thr	Ser	Lys	Asp	Phe	Val	Asn	
			420					425					430			
											•					
gcc	cag	att	gca	tcg	act	cgc	gac	atc	aaa	gca	ggg	gtg	ttt	aat	gat	1344
Ala	Gln	Ile	Ala	Ser	Thr	Arg	Asp	Ile	Lys	Ala	Gly	Val	Phe	Asn	Asp	
		435					440					445				
tgg	ttc	acc	gga	ggt	ctc	aac	aga	cag	att	gag	cat	cat	cta	ttt	cca	1392
Trp	Phe	Thr	Gly	Gly	Leu	Asn	Arg	Gln	Ile	Glu	His	His	Leu	Phe	Pro	
	450					455					460					
_	_			cac												1440
Thr	Met	Pro	Arg	His	Asn	Leu	Asn	Lys	Ile	Ser	Pro	His	Val	Glu		
465					470					475					480	

WO 03/093482	PCT/EP03/04297

ttg tgc aag aag cat gga ctg gtc tac gaa gac gtg agc atg gct tcg 1488 Leu Cys Lys Lys His Gly Leu Val Tyr Glu Asp Val Ser Met Ala Ser 485 490 495

ggc act tac cgg gtt ttg aaa aca ctt aag gac gtt gcc gat gct gct 1536
Gly Thr Tyr Arg Val Leu Lys Thr Leu Lys Asp Val Ala Asp Ala Ala
500 505 510 /

tca cac cag cag ctt gct gcg agt tga 1563
Ser His Gln Gln Leu Ala Ala Ser
515 520

<210> 16

<211> 520

<212> PRT

<213> Ceratodon purpureus

<400> 16

Met Val Ser Gln Gly Gly Gly Leu Ser Gln Gly Ser Ile Glu Glu Asn

1 5 10 15

Ile Asp Val Glu His Leu Ala Thr Met Pro Leu Val Ser Asp Phe Leu 20 25 30

Asn Val Leu Gly Thr Thr Leu Gly Gln Trp Ser Leu Ser Thr Thr Phe 35 40 45

Ala Phe Lys Arg Leu Thr Thr Lys Lys His Ser Ser Asp Ile Ser Val
50 55 60

Glu Ala Gln Lys Glu Ser Val Ala Arg Gly Pro Val Glu Asn Ile Ser
65 70 75 80

Gln Ser Val Ala Gln Pro Ile Arg Arg Trp Val Gln Asp Lys Lys 85 90 95

Pro Val Thr Tyr Ser Leu Lys Asp Val Ala Ser His Asp Met Pro Gln
100 105 110

Asp Cys Trp Ile Ile Ile Lys Glu Lys Val Tyr Asp Val Ser Thr Phe 115 120 125

Ala Glu Gln His Pro Gly Gly Thr Val Ile Asn Thr Tyr Phe Gly Arg 130 135 140

Asp Ala Thr Asp Val Phe Ser Thr Phe His Ala Ser Thr Ser Trp Lys
145 150 155 160

Ile Leu Gln Asn Phe Tyr Ile Gly Asn Leu Val Arg Glu Glu Pro Thr 165 170 175

Leu Glu Leu Lys Glu Tyr Arg Glu Leu Arg Ala Leu Phe Leu Arg 180 185 190

Glu Gln Leu Phe Lys Ser Ser Lys Ser Tyr Tyr Leu Phe Lys Thr Leu 195 200 205

Ile Asn Val Ser Ile Val Ala Thr Ser Ile Ala Ile Ile Ser Leu Tyr 210 215 220

Lys Ser Tyr Arg Ala Val Leu Leu Ser Ala Ser Leu Met Gly Leu Phe 225 230 235 240

Ile Gln Gln Cys Gly Trp Leu Ser His Asp Phe Leu His His Gln Val
245 250 255

Phe Glu Thr Arg Trp Leu Asn Asp Val Val Gly Tyr Val Val Gly Asn 260 265 270

Val Val Leu Gly Phe Ser Val Ser Trp Trp Lys Thr Lys His Asn Leu 275 280 285

His His Ala Ala Pro Asn Glu Cys Asp Gln Lys Tyr Thr Pro Ile Asp 290 295 300

Glu Asp Ile Asp Thr Leu Pro Ile Ile Ala Trp Ser Lys Asp Leu Leu 305 310 315 320

Ala Thr Val Glu Ser Lys Thr Met Leu Arg Val Leu Gln Tyr Gln His

45

325

330

335

Leu Phe Phe Leu Val Leu Leu Thr Phe Ala Arg Ala Ser Trp Leu Phe 340 345 350

Trp Ser Ala Ala Phe Thr Leu Arg Pro Glu Leu Thr Leu Gly Glu Lys
355 360 365

Leu Leu Glu Arg Gly Thr Met Ala Leu His Tyr Ile Trp Phe Asn Ser 370 375 380

Val Ala Phe Tyr Leu Leu Pro Gly Trp Lys Pro Val Val Trp Met Val 385 390 395 400

Val Ser Glu Leu Met Ser Gly Phe Leu Leu Gly Tyr Val Phe Val Leu 405 410 415

Ser His Asn Gly Met Glu Val Tyr Asn Thr Ser Lys Asp Phe Val Asn 420 425 430

Ala Gln Ile Ala Ser Thr Arg Asp Ile Lys Ala Gly Val Phe Asn Asp 435 440 445

Trp Phe Thr Gly Gly Leu Asn Arg Gln Ile Glu His His Leu Phe Pro 450 455 460

Thr Met Pro Arg His Asn Leu Asn Lys Ile Ser Pro His Val Glu Thr 465 470 475 480

Leu Cys Lys Lys His Gly Leu Val Tyr Glu Asp Val Ser Met Ala Ser 485 490 495

Gly Thr Tyr Arg Val Leu Lys Thr Leu Lys Asp Val Ala Asp Ala Ala 500 505 510

Ser His Gln Gln Leu Ala Ala Ser 515 520

PCT/EP03/04297

<211> 1578 <212> DNA

<213> Physcomitrella patens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1578)

<223> Delta-6-Desaturase

<400> 17

atg gta ttc gcg ggc ggt gga ctt cag cag ggc tct ctc gaa gaa aac 48
Met Val Phe Ala Gly Gly Gly Leu Gln Gln Gly Ser Leu Glu Glu Asn
1 5 10 15

atc gac gtc gag cac att gcc agt atg tct ctc ttc agc gac ttc ttc 96

Ile Asp Val Glu His Ile Ala Ser Met Ser Leu Phe Ser Asp Phe Phe

20 25 30

agt tat gtg tct tca act gtt ggt tcg tgg agc gta cac agt ata caa 144
Ser Tyr Val Ser Ser Thr Val Gly Ser Trp Ser Val His Ser Ile Gln
35 40 45

cct ttg aag cgc ctg acg agt aag cgt gtt tcg gaa agc gct gcc 192
Pro Leu Lys Arg Leu Thr Ser Lys Lys Arg Val Ser Glu Ser Ala Ala
50 55 60

gtg caa tgt ata tca gct gaa gtt cag aga aat tcg agt acc cag gga 240
Val Gln Cys Ile Ser Ala Glu Val Gln Arg Asn Ser Ser Thr Gln Gly
65 70 75 80

act gcg gag gca ctc gca gaa tca gtc gtg aag ccc acg aga cga agg 288

Thr Ala Glu Ala Leu Ala Glu Ser Val Val Lys Pro Thr Arg Arg Arg 85 90 95

tca tct cag tgg aag aag tcg aca cac ccc cta tca gaa gta gca gta 336
Ser Ser Gln Trp Lys Lys Ser Thr His Pro Leu Ser Glu Val Ala Val
100 105 . 110

cac aac aag cca agc gat tgc tgg att gtt gta aaa aac aag gtg tat 384 His Asn Lys Pro Ser Asp Cys Trp Ile Val Val Lys Asn Lys Val Tyr

gat gtt tcc aat ttt gcg gac gag cat ccc gga gga tca gtt att agt Asp Val Ser Asn Phe Ala Asp Glu His Pro Gly Gly Ser Val Ile Ser act tat ttt gga cga gac ggc aca gat gtt ttc tct agt ttt cat gca Thr Tyr Phe Gly Arg Asp Gly Thr Asp Val Phe Ser Ser Phe His Ala gct tct aca tgg aaa att ctt caa gac ttt tac att ggt gac gtg gag Ala Ser Thr Trp Lys Ile Leu Gln Asp Phe Tyr Ile Gly Asp Val Glu agg gtg gag ccg act cca gag ctg ctg aaa gat ttc cga gaa atg aga Arg Val Glu Pro Thr Pro Glu Leu Leu Lys Asp Phe Arg Glu Met Arg gct ctt ttc ctg agg gag caa ctt ttc aaa agt tcg aaa ttg tac tat Ala Leu Phe Leu Arg Glu Gln Leu Phe Lys Ser Ser Lys Leu Tyr Tyr gtt atg aag ctg ctc acg aat gtt gct att ttt gct gcg agc att gca Val Met Lys Leu Leu Thr Asn Val Ala Ile Phe Ala Ala Ser Ile Ala ata ata tgt tgg agc aag act att tca gcg gtt ttg gct tca gct tgt Ile Ile Cys Trp Ser Lys Thr Ile Ser Ala Val Leu Ala Ser Ala Cys atg atg gct ctg tgt ttc caa cag tgc gga tgg cta tcc cat gat ttt Met Met Ala Leu Cys Phe Gln Gln Cys Gly Trp Leu Ser His Asp Phe ctc cac aat cag gtg ttt gag aca cgc tgg ctt aat gaa gtt gtc ggg Leu His Asn Gln Val Phe Glu Thr Arg Trp Leu Asn Glu Val Val Gly

tat gtg atc ggc aac gcc gtt ctg ggg ttt agt aca ggg tgg tgg aag Tyr Val Ile Gly Asn Ala Val Leu Gly Phe Ser Thr Gly Trp Trp Lys

WO 03/093482		PCT/EP03/04297
	48	

gag aag cat aac ctt cat cat gct gct cca aat gaa tgc gat cag act Glu Lys His Asn Leu His His Ala Ala Pro Asn Glu Cys Asp Gln Thr tac caa cca att gat gaa gat att gat act ctc ccc ctc att gcc tgg Tyr Gln Pro Ile Asp Glu Asp Ile Asp Thr Leu Pro Leu Ile Ala Trp agc aag gac ata ctg gcc aca gtt gag aat aag aca ttc ttg cga atc Ser Lys Asp Ile Leu Ala Thr Val Glu Asn Lys Thr Phe Leu Arg Ile ctc caa tac cag cat ctg ttc ttc atg ggt ctg tta ttt ttc gcc cgt Leu Gln Tyr Gln His Leu Phe Phe Met Gly Leu Leu Phe Phe Ala Arg ggt agt tgg ctc ttt tgg agc tgg aga tat acc tct aca gca gtg ctc Gly Ser Trp Leu Phe Trp Ser Trp Arg Tyr Thr Ser Thr Ala Val Leu tca cct gtc gac agg ttg ttg gag aag gga act gtt ctg ttt cac tac Ser Pro Val Asp Arg Leu Leu Glu Lys Gly Thr Val Leu Phe His Tyr ttt tgg ttc gtc ggg aca gcg tgc tat ctt ctc cct ggt tgg aag cca Phe Trp Phe Val Gly Thr Ala Cys Tyr Leu Leu Pro Gly Trp Lys Pro tta gta tgg atg gcg gtg act gag ctc atg tcc ggc atg ctg ctg ggc Leu Val Trp Met Ala Val Thr Glu Leu Met Ser Gly Met Leu Leu Gly ttt gta ttt gta ctt agc cac aat ggg atg gag gtt tat aat tcg tct Phe Val Phe Val Leu Ser His Asn Gly Met Glu Val Tyr Asn Ser Ser

aaa gaa ttc gtg agt gca cag atc gta tcc aca cgg gat atc aaa gga

Lys Glu Phe Val Ser Ala Gln Ile Val Ser Thr Arg Asp Ile Lys Gly

WO 03/093482		PCT/EP03/04297
	49	

435 440 445

aac ata ttc aac gac tgg ttc act ggt ggc ctt aac agg caa ata gag 1392
Asn Ile Phe Asn Asp Trp Phe Thr Gly Gly Leu Asn Arg Gln Ile Glu
450 455 460

cat cat ctt ttc cca aca atg ccc agg cat aat tta aac aaa ata gca 1440
His His Leu Phe Pro Thr Met Pro Arg His Asn Leu Asn Lys Ile Ala
465 470 475 480

cct aga gtg gag gtg ttc tgt aag aaa cac ggt ctg gtg tac gaa gac 1488
Pro Arg Val Glu Val Phe Cys Lys Lys His Gly Leu Val Tyr Glu Asp
485 490 495

gta tct att gct acc ggc act tgc aag gtt ttg aaa gca ttg aag gaa 1536
Val Ser Ile Ala Thr Gly Thr Cys Lys Val Leu Lys Ala Leu Lys Glu
500 505 510

gtc gcg gag gct gcg gca gag cag cat gct acc acc agt taa 1578
Val Ala Glu Ala Ala Glu Gln His Ala Thr Thr Ser
515 520 525

<210> 18

<211> 525

<212> PRT

<213> Physcomitrella patens

<400> 18

Met Val Phe Ala Gly Gly Gly Leu Gln Gln Gly Ser Leu Glu Glu Asn

1 5 10 15

Ile Asp Val Glu His Ile Ala Ser Met Ser Leu Phe Ser Asp Phe Phe 20 25 30

Ser Tyr Val Ser Ser Thr Val Gly Ser Trp Ser Val His Ser Ile Gln 35 40 45

Pro Leu Lys Arg Leu Thr Ser Lys Lys Arg Val Ser Glu Ser Ala Ala 50 55 . 60

Val Gln Cys Ile Ser Ala Glu Val Gln Arg Asn Ser Ser Thr Gln Gly 65 70 75 80

Thr Ala Glu Ala Leu Ala Glu Ser Val Val Lys Pro Thr Arg Arg Arg
85 90 95

Ser Ser Gln Trp Lys Lys Ser Thr His Pro Leu Ser Glu Val Ala Val
100 105 110

His Asn Lys Pro Ser Asp Cys Trp Ile Val Val Lys Asn Lys Val Tyr 115 120 125

Asp Val Ser Asn Phe Ala Asp Glu His Pro Gly Gly Ser Val Ile Ser 130 135 140

Thr Tyr Phe Gly Arg Asp Gly Thr Asp Val Phe Ser Ser Phe His Ala 145 150 155 160

Ala Ser Thr Trp Lys Ile Leu Gln Asp Phe Tyr Ile Gly Asp Val Glu 165 170 175

Arg Val Glu Pro Thr Pro Glu Leu Leu Lys Asp Phe Arg Glu Met Arg 180 185 190

Ala Leu Phe Leu Arg Glu Gln Leu Phe Lys Ser Ser Lys Leu Tyr Tyr 195 200 205

Val Met Lys Leu Leu Thr Asn Val Ala Ile Phe Ala Ala Ser Ile Ala 210 215 220

Ile Ile Cys Trp Ser Lys Thr Ile Ser Ala Val Leu Ala Ser Ala Cys
225 230 235 240

Met Met Ala Leu Cys Phe Gln Gln Cys Gly Trp Leu Ser His Asp Phe 245 250 255

Leu His Asn Gln Val Phe Glu Thr Arg Trp Leu Asn Glu Val Val Gly 260 265 270

51

Tyr Val Ile Gly Asn Ala Val Leu Gly Phe Ser Thr Gly Trp Trp Lys
275 280 285

Glu Lys His Asn Leu His His Ala Ala Pro Asn Glu Cys Asp Gln Thr 290 295 300

Tyr Gln Pro Ile Asp Glu Asp Ile Asp Thr Leu Pro Leu Ile Ala Trp 305 310 315 320

Ser Lys Asp Ile Leu Ala Thr Val Glu Asn Lys Thr Phe Leu Arg Ile 325 330 335

Leu Gln Tyr Gln His Leu Phe Phe Met Gly Leu Leu Phe Phe Ala Arg 340 345 350

Gly Ser Trp Leu Phe Trp Ser Trp Arg Tyr Thr Ser Thr Ala Val Leu 355 360 365

Ser Pro Val Asp Arg Leu Leu Glu Lys Gly Thr Val Leu Phe His Tyr 370 375 380

Phe Trp Phe Val Gly Thr Ala Cys Tyr Leu Leu Pro Gly Trp Lys Pro 385 390 395 400

Leu Val Trp Met Ala Val Thr Glu Leu Met Ser Gly Met Leu Leu Gly
405 410 415

Phe Val Phe Val Leu Ser His Asn Gly Met Glu Val Tyr Asn Ser Ser 420 425 430

Lys Glu Phe Val Ser Ala Gln Ile Val Ser Thr Arg Asp Ile Lys Gly
435 440 445

Asn Ile Phe Asn Asp Trp Phe Thr Gly Gly Leu Asn Arg Gln Ile Glu 450 455 460

His His Leu Phe Pro Thr Met Pro Arg His Asn Leu Asn Lys Ile Ala 465 470 475 480

Pro Arg Val Glu Val Phe Cys Lys His Gly Leu Val Tyr Glu Asp

WO 03/093482 PCT/EP03/04297 **52**

485 490 495

Val Ser Ile Ala Thr Gly Thr Cys Lys Val Leu Lys Ala Leu Lys Glu 500 505 510

Val Ala Glu Ala Ala Glu Gln His Ala Thr Thr Ser 515 520 525

<210> 19

<211> 837

<212> DNA

<213> Phytophthora infestans

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(837)

<223> Delta-6-Elongase

<400> 19

atg tcg act gag cta ctg cag agc tac tac gcg tgg gcc aac gcc acg

Met Ser Thr Glu Leu Leu Gln Ser Tyr Tyr Ala Trp Ala Asn Ala Thr

1 5 10 15

gag gcc aag ctg ctg gac tgg gtc gac cct gag ggc ggc tgg aag gtg 96
Glu Ala Lys Leu Leu Asp Trp Val Asp Pro Glu Gly Gly Trp Lys Val
20 25 30

cat cct atg gca gac tac ccc cta gcc aac ttc tcc agc gtc tac gcc 144

His Pro Met Ala Asp Tyr Pro Leu Ala Asn Phe Ser Ser Val Tyr Ala

35 40 45

atc tgc gtc gga tac ttg ctc ttc gta atc ttc ggc acg gcc ctg atg 192

Ile Cys Val Gly Tyr Leu Leu Phe Val Ile Phe Gly Thr Ala Leu Met

50 55 60

aaa atg gga gtc ccc gcc atc aag acc agt cca tta cag ttt gtg tac 240
Lys Met Gly Val Pro Ala Ile Lys Thr Ser Pro Leu Gln Phe Val Tyr
65 70 75 80

WO 03/093482 PCT/EP03/04297 ${\bf 53}$ aac ccc atc caa gtc att gcc tgc tct tat atg tgc gtg gag gcc gcc 288

aac ccc atc caa gtc att gcc tgc tct tat atg tgc gtg gag gcc gcc 288
Asn Pro Ile Gln Val Ile Ala Cys Ser Tyr Met Cys Val Glu Ala Ala
85 90 95

atc cag gcc tac cgc aac ggc tac acc gcc gcc ccg tgc aac gcc ttt 336

Ile Gln Ala Tyr Arg Asn Gly Tyr Thr Ala Ala Pro Cys Asn Ala Phe

100 105 110

aag too gac gac coc gto atg ggc aac gtt ctg tac ctc ttc tat ctc 384

Lys Ser Asp Asp Pro Val Met Gly Asn Val Leu Tyr Leu Phe Tyr Leu

115 120 125

tcc aag atg ctc gac ctg tgc gac aca gtc ttc att atc cta gga aag 432 Ser Lys Met Leu Asp Leu Cys Asp Thr Val Phe Ile Ile Leu Gly Lys 130 135 140

aag tgg aaa cag ctt tcc atc ttg cac gtg tac cac cac ctt acc gtg

Lys Trp Lys Gln Leu Ser Ile Leu His Val Tyr His His Leu Thr Val

145 150 155 160

ctt ttc gtc tac tat gtg acg ttc cgc gcc gct cag gac ggg gac tca 528
Leu Phe Val Tyr Tyr Val Thr Phe Arg Ala Ala Gln Asp Gly Asp Ser
165 170 175

tat gct acc atc gtg ctc aac ggc ttc gtg cac acc atc atg tac act

Tyr Ala Thr Ile Val Leu Asn Gly Phe Val His Thr Ile Met Tyr Thr

180 185 190

tac tac ttc gtc agc gcc cac acg cgc aac att tgg tgg aag aag tac 624
Tyr Tyr Phe Val Ser Ala His Thr Arg Asn Ile Trp Trp Lys Lys Tyr
195 200 205

ctc acg cgc att cag ctt atc cag ttc gtg acc atg aac gtg cag ggc 672
Leu Thr Arg Ile Gln Leu Ile Gln Phe Val Thr Met Asn Val Gln Gly
210 215 220

tac ctg acc tac tct cga cag tgc cca ggc atg cct cct aag gtg ccg

Tyr Leu Thr Tyr Ser Arg Gln Cys Pro Gly Met Pro Pro Lys Val Pro

225 230 235 240

WO 03/093482		PCT/EP03/04297
	54	

ctc atg tac ctt gtg tac gtg cag tca ctc ttc tgg ctc ttc atg aat 768

Leu Met Tyr Leu Val Tyr Val Gln Ser Leu Phe Trp Leu Phe Met Asn

245 250 255

ttc tac att cgc gcg tac gtg ttc ggc ccc aag aaa ccg gcc gtg gag 816 Phe Tyr Ile Arg Ala Tyr Val Phe Gly Pro Lys Lys Pro Ala Val Glu 260 265 270

gaa tcg aag aag ttg taa 837
Glu Ser Lys Lys Leu
275

<210> 20

<211> 278

<212> PRT

<213> Phytophthora infestans

<400> 20

Met Ser Thr Glu Leu Leu Gln Ser Tyr Tyr Ala Trp Ala Asn Ala Thr

1 5 10 15

Glu Ala Lys Leu Leu Asp Trp Val Asp Pro Glu Gly Gly Trp Lys Val
20 25 30

His Pro Met Ala Asp Tyr Pro Leu Ala Asn Phe Ser Ser Val Tyr Ala 35 40 45

Ile Cys Val Gly Tyr Leu Leu Phe Val Ile Phe Gly Thr Ala Leu Met 50 55 60

Lys Met Gly Val Pro Ala Ile Lys Thr Ser Pro Leu Gln Phe Val Tyr
65 70 75 80

Asn Pro Ile Gln Val Ile Ala Cys Ser Tyr Met Cys Val Glu Ala Ala 85 90 95

Ile Gln Ala Tyr Arg Asn Gly Tyr Thr Ala Ala Pro Cys Asn Ala Phe 100 105 110

Lys Ser Asp Asp Pro Val Met Gly Asn Val Leu Tyr Leu Phe Tyr Leu

Ser Lys Met Leu Asp Leu Cys Asp Thr Val Phe Ile Ile Leu Gly Lys

Lys Trp Lys Gln Leu Ser Ile Leu His Val Tyr His His Leu Thr Val

Leu Phe Val Tyr Tyr Val Thr Phe Arg Ala Ala Gln Asp Gly Asp Ser

Tyr Ala Thr Ile Val Leu Asn Gly Phe Val His Thr Ile Met Tyr Thr

Tyr Tyr Phe Val Ser Ala His Thr Arg Asn Ile Trp Trp Lys Lys Tyr

Leu Thr Arg Ile Gln Leu Ile Gln Phe Val Thr Met Asn Val Gln Gly

Tyr Leu Thr Tyr Ser Arg Gln Cys Pro Gly Met Pro Pro Lys Val Pro

Leu Met Tyr Leu Val Tyr Val Gln Ser Leu Phe Trp Leu Phe Met Asn

Phe Tyr Ile Arg Ala Tyr Val Phe Gly Pro Lys Lys Pro Ala Val Glu

Glu Ser Lys Lys Leu

<210> 21

<211> 1410

<212> DNA

<213> Phaeodactylum tricornutum

<220>

WO 03/093482	PCT/EP03/04297

<221> CDS <222> (1)..(1410) <223> Delta-5-Desaturase <400> 21 atg gct ccg gat gcg gat aag ctt cga caa cgc cag acg act gcg gta Met Ala Pro Asp Ala Asp Lys Leu Arg Gln Arg Gln Thr Thr Ala Val gcg aag cac aat gct gct acc ata tcg acg cag gaa cgc ctt tgc agt Ala Lys His Asn Ala Ala Thr Ile Ser Thr Gln Glu Arg Leu Cys Ser ctg tct tcg ctc aaa ggc gaa gaa gtc tgc atc gac gga atc atc tat Leu Ser Ser Leu Lys Gly Glu Glu Val Cys Ile Asp Gly Ile Ile Tyr gac ctc caa tca ttc gat cat ccc ggg ggt gaa acg atc aaa atg ttt Asp Leu Gln Ser Phe Asp His Pro Gly Glu Thr Ile Lys Met Phe ggt ggc aac gat gtc act gta cag tac aag atg att cac ccg tac cat Gly Gly Asn Asp Val Thr Val Gln Tyr Lys Met Ile His Pro Tyr His acc gag aag cat ttg gaa aag atg aag cgt gtc ggc aag gtg acg gat Thr Glu Lys His Leu Glu Lys Met Lys Arg Val Gly Lys Val Thr Asp tte gte tge gag tac aag tte gat ace gaa ttt gaa ege gaa ate aaa Phe Val Cys Glu Tyr Lys Phe Asp Thr Glu Phe Glu Arg Glu Ile Lys cga gaa gtc ttc aag att gtg cga cga ggc aag gat ttc ggt act ttg Arg Glu Val Phe Lys Ile Val Arg Arg Gly Lys Asp Phe Gly Thr Leu

gga tgg ttc ttc cgt gcg ttt tgc tac att gcc att ttc ttc tac ctg Gly Trp Phe Phe Arg Ala Phe Cys Tyr Ile Ala Ile Phe Phe Tyr Leu

caq	tac	cat	t.aa	atc	acc	acσ	σσа	acc	tct	tgg	ctg	ctg	gcc	gtg	gcc	480
														Val		
145	-3-		p		150		3			155					160	
140					130											
tac	~~=	atc	tcc	caa		ata	att	aac	atσ	aat	atc	caσ	cac	gat	acc	528
														Asp		
Tyr	GIŞ	TTE	261		Ala	Mec	116	Gly	170		Vu1	0111		175		
				165					170					1.3		
						224	~~+	000	taa	ata	220	gac	ata	cta	aac	576
																3.0
Asn	HIS	GIĀ		THE	Ser	гåг	Arg		iip	var	nom	пор	190	Leu		
			180					185					190			
						~~+	~~+	taa	224	taa	ctc	taa	cad	gaa	caa	624
	-													Glu		00.
Leu	GIĀ		Asp	Pne	TTE	GTÅ		Ser	ьўs	ııp	neu	205	GIII	GIU	GIII	
		195					200					203				
										~~~	~~~	a.t.a	an t	000	ast	672
														CCC		072
His	_	Thr	His	His	Ala		Thr	Asn	HIS	Ala		Met	ASD	Pro	Asp	
	210					215					220					
															~~+	720
_														ttg		720
Ser	Phe	Gly	Ala	Glu		Met	Leu	Leu	Phe		Asp	чуг	Pro	Leu		
225					230					235					240	
														tac		768
His	Pro	Ala	Arg	Thr	Trp	Leu	His	Arg	Phe	Gln	Ala	Phe	Phe	Tyr	Met	
				245					250					255		
	_													caa		816
Pro	Val	Leu	Ala	Gly	Tyr	Trp	Leu	Ser	Ala	Val	Phe	Asn	Pro	Gln	Ile	
			260					265					270			
ctt	gac	ctc	cag	caa	cgc	ggc	gca	ctt	tcc	gtc	ggt	atc	cgt	ctc	gac	864
Leu	Asp	Leu	Gln	Gln	Arg	Gly	Ala	Leu	Ser	Val	Gly	Ile	Arg	Leu	Asp	
		275	•				280					285				
aac	gct	ttc	att	cac	tcg	cga	cgc	aag	tat	gcg	gtt	ttc	tgg	cgg	gct	912
Asn	Ala	Phe	Ile	His	Ser	Arg	Arg	Lys	Tyr	Ala	Val	Phe	Trp	Arg	Ala	
	290					295					300					

~+~	t 2.0	a++	aca	gtg	aac	ata	att	act	cca	ttt	tac	aca	aac	tcc	ggc	960
				Val						•						
	туг	TTE	Ala	vai	310	Vai	116	ALG	FIO	315	-7-	****			320	
305					310					313						
					- 4.							ata	250	aat	ata	1008
	-			tgg												1000
Leu	Glu	Trp	Ser	Trp	Arg	Val	Pne	GIŢ		IIe	Met	Leu	Mec		vai	
				325					330					335		
																1056
				gcg												1056
Ala	Glu	Ser	Leu	Ala	Leu	Ala	Val		Phe	Ser	Leu	Ser		ASN	Pne	
			340					345					350			
																4104
				cgc												1104
Glu	Ser	Ala	Asp	Arg	Asp	Pro	Thr	Ala	Pro	Leu	Lys		Thr	Gly	Glu	
		355					360					365				
															·	
				ttc												1152
Pro	Val	Asp	Trp	Phe	Lys	Thr	Gln	Val	Glu	Thr	Ser	Суѕ	Thr	Tyr	Gly	
	370					375					380					
gga	ttc	ctt	tcc	ggt	tgc	ttc	acg	gga	ggt	ctc	aac	ttt	cag	gtt	gaa	1200
Gly	Phe	Leu	Ser	Gly	Cys	Phe	Thr	Gly	Gly	Leu	Asn	Phe	Gln	Val	Glu	
385					390					395					400	
cac	cac	ttg	ttc	cca	cgc	atg	agc	agc	gct	tgg	tat	ccc	tac	att	gcc	1248
His	His	Leu	Phe	Pro	Arg	Met	Ser	Ser	Ala	Trp	Tyr	Pro	Tyr	Ile	Ala	
				405					410					415		
ccc	aag	gtc	cgc	gaa	att	tgc	gcc	aaa	cac	ggc	gtc	cac	tac	gcc	tac	1296
				Glu												
			420					425					430			
tac	ccg	tgg	atc	cac	caa	aac	ttt	ctc	tcc	acc	gtc	cgc	tac	atg	cac	1344
	_			His												
-		435					440					445				
aca	gcc	gaa	acc	gat	gcc	aac	tga	cgc	cag	atg	gcc	aga	gaa	aat	ccc	1392
				Gly												
	450			3		455	•	•			460					
	-50										•					

ttg acc gga cgg gcg taa Leu Thr Gly Arg Ala 465 470 1410

<210> 22

<211> 469

<212> PRT

<213> Phaeodactylum tricornutum

<400> 22

Met Ala Pro Asp Ala Asp Lys Leu Arg Gln Arg Gln Thr Thr Ala Val

Ala Lys His Asn Ala Ala Thr Ile Ser Thr Gln Glu Arg Leu Cys Ser 20 25 30

Leu Ser Ser Leu Lys Gly Glu Glu Val Cys Ile Asp Gly Ile Ile Tyr 35 40 45

Asp Leu Gln Ser Phe Asp His Pro Gly Gly Glu Thr Ile Lys Met Phe 50 55 60

Gly Gly Asn Asp Val Thr Val Gln Tyr Lys Met Ile His Pro Tyr His
65 70 75 80

Thr Glu Lys His Leu Glu Lys Met Lys Arg Val Gly Lys Val Thr Asp
85 90 95

Phe Val Cys Glu Tyr Lys Phe Asp Thr Glu Phe Glu Arg Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Glu Val Phe Lys Ile Val Arg Arg Gly Lys Asp Phe Gly Thr Leu 115 120 125

Gly Trp Phe Phe Arg Ala Phe Cys Tyr Ile Ala Ile Phe Phe Tyr Leu 130 135 140

Gln Tyr His Trp Val Thr Thr Gly Thr Ser Trp Leu Leu Ala Val Ala

60

145 150 155 160

Tyr Gly Ile Ser Gln Ala Met Ile Gly Met Asn Val Gln His Asp Ala 165 170 175

Asn His Gly Ala Thr Ser Lys Arg Pro Trp Val Asn Asp Met Leu Gly
180 185 190

Leu Gly Ala Asp Phe Ile Gly Gly Ser Lys Trp Leu Trp Gln Glu Gln
195 200 205

His Trp Thr His His Ala Tyr Thr Asn His Ala Glu Met Asp Pro Asp 210 225 220

Ser Phe Gly Ala Glu Pro Met Leu Leu Phe Asn Asp Tyr Pro Leu Asp 225 230 235 240

His Pro Ala Arg Thr Trp Leu His Arg Phe Gln Ala Phe Phe Tyr Met 245 250 255

Pro Val Leu Ala Gly Tyr Trp Leu Ser Ala Val Phe Asn Pro Gln Ile 260 265 270

Leu Asp Leu Gln Gln Arg Gly Ala Leu Ser Val Gly Ile Arg Leu Asp 275 280 285

Asn Ala Phe Ile His Ser Arg Arg Lys Tyr Ala Val Phe Trp Arg Ala 290 295 300

Val Tyr Ile Ala Val Asn Val Ile Ala Pro Phe Tyr Thr Asn Ser Gly 305 310 315 320

Leu Glu Trp Ser Trp Arg Val Phe Gly Asn Ile Met Leu Met Gly Val 325 330 335

Ala Glu Ser Leu Ala Leu Ala Val Leu Phe Ser Leu Ser His Asn Phe 340 345 350

Glu Ser Ala Asp Arg Asp Pro Thr Ala Pro Leu Lys Lys Thr Gly Glu 355 360 365

Pro Val Asp Trp Phe Lys Thr Gln Val Glu Thr Ser Cys Thr Tyr Gly 380 375 370

Gly Phe Leu Ser Gly Cys Phe Thr Gly Gly Leu Asn Phe Gln Val Glu 400 395 390 385

His His Leu Phe Pro Arg Met Ser Ser Ala Trp Tyr Pro Tyr Ile Ala 410 405

Pro Lys Val Arg Glu Ile Cys Ala Lys His Gly Val His Tyr Ala Tyr 430 420 425

Tyr Pro Trp Ile His Gln Asn Phe Leu Ser Thr Val Arg Tyr Met His 445 435 440

Ala Ala Gly Thr Gly Ala Asn Trp Arg Gln Met Ala Arg Glu Asn Pro 460 450 455

Leu Thr Gly Arg Ala 465

<210> 23

<211> 1344

<212> DNA

<213> Caenorhabditis elegans

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1344)

<223> Delta-5-Desaturase

<400> 23

atg gta tta cga gag caa gag cat gag cca ttc ttc att aaa att gat Met Val Leu Arg Glu Gln Glu His Glu Pro Phe Phe Ile Lys Ile Asp 15 10 1

gga aaa tgg tgt caa att gac gat gct gtc ctg aga tca cat cca ggt Gly Lys Trp Cys Gln Ile Asp Asp Ala Val Leu Arg Ser His Pro Gly

20 25 30

ggt agt gca att act acc tat aaa aat atg gat gcc act acc gta ttc Gly Ser Ala Ile Thr Thr Tyr Lys Asn Met Asp Ala Thr Thr Val Phe cac aca ttc cat act ggt tct aaa gaa gcg tat caa tgg ctg aca gaa His Thr Phe His Thr Gly Ser Lys Glu Ala Tyr Gln Trp Leu Thr Glu ttg aaa aaa gag tgc cct aca caa gaa cca gag atc cca gat att aag Leu Lys Lys Glu Cys Pro Thr Gln Glu Pro Glu Ile Pro Asp Ile Lys gat gac cca atc aaa gga att gat gat gtg aac atg gga act ttc aat Asp Asp Pro Ile Lys Gly Ile Asp Asp Val Asn Met Gly Thr Phe Asn att tot gag aaa cga tot goo caa ata aat aaa agt tto act gat cta Ile Ser Glu Lys Arg Ser Ala Gln Ile Asn Lys Ser Phe Thr Asp Leu cgt atg cga gtt cgt gca gaa gga ctt atg gat gga tct cct ttg ttc Arg Met Arg Val Arg Ala Glu Gly Leu Met Asp Gly Ser Pro Leu Phe tac att aga aaa att ctt gaa aca atc ttc aca att ctt ttt gca ttc Tyr Ile Arg Lys Ile Leu Glu Thr Ile Phe Thr Ile Leu Phe Ala Phe tac ctt caa tac cac aca tat tat ctt cca tca gct att cta atg gga Tyr Leu Gln Tyr His Thr Tyr Tyr Leu Pro Ser Ala Ile Leu Met Gly gtt gcg tgg caa caa ttg gga tgg tta atc cat gaa ttc gca cat cat Val Ala Trp Gln Gln Leu Gly Trp Leu Ile His Glu Phe Ala His His cag ttg ttc aaa aac aga tac tac aat gat ttg gcc agc tat ttc gtt 

Gln Leu Phe Lys Asn Arg Tyr Tyr Asn Asp Leu Ala Ser Tyr Phe Val

									,	03						
			180					185					190			
gga	aac	ttt	tta	caa	gga	ttc	tca	tct	ggt	ggt	tgg	aaa	gag	cag	cac	624
				Gln												
0-3		195			_		200		_	_		205				
		170														
22+	ata	cat	cac	gca	acc	aca	aat	att	att	gga	cσa	gac	gga	gat	ctt	672
				Ala												
ASII	210	mis	1113	niu	****	215				V-3	220			-		
	210					213										
				ttc		~~+	262	ata	ac a	caa.	cat	ctc	aac	aat	tat	720
																, - 0
_	Leu	vaı	Pro	Phe		Ala	THE	vai	AId		nis	пеа	ASII		240	
225					230					235					240	
													<b>-</b>			760
	_			tgg							,					768
Ser	Gln	Asp	Ser	Trp	Val	Met	Thr	Leu		Arg	Trp	Gln	His		His	
				245					250					255		
														,		
tgg	aca	ttc	atg	tta	cca	ttc	ctc	cgt	ctc	tcg	tgg	ctt	ctt	cag	tca	816
Trp	Thr	Phe	Met	Leu	Pro	Phe	Leu	Arg	Leu	Ser	Trp	Leu	Leu	Gln	Ser	
			260					265				•	270			
						•										
atc	att	ttt	gtt	agt	cag	atg	cca	act	cat	tat	tat	gac	tat	tac	aga	864
Ile	Ile	Phe	Val	Ser	Gln	Met	Pro	Thr	His	Tyr	Tyr	Asp	Tyr	Tyr	Arg	
		275					280					285				
aat	act	gcg	att	tat	gaa	cag	gtt	ggt	ctc	tct	ttg	cac	tgg	gct	tgg	912
Asn	Thr	Ala	Ile	Tyr	Glu	Gln	Val	Gly	Leu	Ser	Leu	His	Trp	Ala	Trp	
	290					295					300					
tca	tta	aat	caa	ttg	tat	ttc	cta	ccc	gat	tgg	tca	act	aga	ata	atg	960
	_			Leu												
305		U-,			310				_	315					320	
303																
++~	tta	ctt	att	tct	cat	ctt	att	aas	aat	tto	cta	ctc	tct	cat	gta	1008
				Ser												
FIIG	FIIG	nea	ACT	325		200		U+1	330					335	_	
				343					550		•					
- فيقيم		<b></b> .	225	-	+=+	tan	~+~	<b>~</b> =~	22~	+++	acs.	++~	àde	taa	aac	1056
gtt	act	LEC.	aat	cat	_	cca	9.9	yay a-	-		yca 		290		700	

Val Thr Phe Asn His Tyr Ser Val Glu Lys Phe Ala Leu Ser Ser Asn

340 345 350

atc atg tca aat tac gct tgt ctt caa atc atg acc aca aga aat atg 1104

Ile Met Ser Asn Tyr Ala Cys Leu Gln Ile Met Thr Thr Arg Asn Met

355 360 365

aga cct gga aga ttc att gac tgg ctt tgg gga ggt ctt aac tat cag 1152
Arg Pro Gly Arg Phe Ile Asp Trp Leu Trp Gly Gly Leu Asn Tyr Gln
370 375 380

att gag cac cat ctt ttc cca acg atg cca cga cac aac ttg aac act 1200

Ile Glu His His Leu Phe Pro Thr Met Pro Arg His Asn Leu Asn Thr

385 390 395 400

gtt atg cca ctt gtt aag gag ttt gca gca gca aat ggt tta cca tac 1248

Val Met Pro Leu Val Lys Glu Phe Ala Ala Ala Asn Gly Leu Pro Tyr

405 410 415

atg gtc gac gat tat ttc aca gga ttc tgg ctt gaa att gag caa ttc 1296
Met Val Asp Asp Tyr Phe Thr Gly Phe Trp Leu Glu Ile Glu Gln Phe
420 425 430

cga aat att gca aat gtt gct gct aaa ttg act aaa aag att gcc tag 1344
Arg Asn Ile Ala Asn Val Ala Ala Lys Leu Thr Lys Lys Ile Ala
435 440 445

<210> 24

<211> 447

<212> PRT

<213> Caenorhabditis elegans

<400> 24

Met Val Leu Arg Glu Gln Glu His Glu Pro Phe Phe Ile Lys Ile Asp 1 5 10 15

Gly Lys Trp Cys Gln Ile Asp Asp Ala Val Leu Arg Ser His Pro Gly
20 25 30

Gly Ser Ala Ile Thr Thr Tyr Lys Asn Met Asp Ala Thr Thr Val Phe

35 40 45

His Thr Phe His Thr Gly Ser Lys Glu Ala Tyr Gln Trp Leu Thr Glu 50 55 60

Leu Lys Lys Glu Cys Pro Thr Gln Glu Pro Glu Ile Pro Asp Ile Lys
65 70 75 80

Asp Asp Pro Ile Lys Gly Ile Asp Asp Val Asn Met Gly Thr Phe Asn 85 90 95

Ile Ser Glu Lys Arg Ser Ala Gln Ile Asn Lys Ser Phe Thr Asp Leu 100 105 110

Arg Met Arg Val Arg Ala Glu Gly Leu Met Asp Gly Ser Pro Leu Phe 115 120 125

Tyr Ile Arg Lys Ile Leu Glu Thr Ile Phe Thr Ile Leu Phe Ala Phe 130 135 140

Tyr Leu Gln Tyr His Thr Tyr Tyr Leu Pro Ser Ala Ile Leu Met Gly
145 150 155 160

Val Ala Trp Gln Gln Leu Gly Trp Leu Ile His Glu Phe Ala His His
165 170 175

Gln Leu Phe Lys Asn Arg Tyr Tyr Asn Asp Leu Ala Ser Tyr Phe Val 180 185 190

Gly Asn Phe Leu Gln Gly Phe Ser Ser Gly Gly Trp Lys Glu Gln His
195 200 205

Asn Val His His Ala Ala Thr Asn Val Val Gly Arg Asp Gly Asp Leu 210 215 220

Asp Leu Val Pro Phe Tyr Ala Thr Val Ala Glu His Leu Asn Asn Tyr 225 230 235 240

Ser Gln Asp Ser Trp Val Met Thr Leu Phe Arg Trp Gln His Val His 245 250 255

Trp Thr Phe Met Leu Pro Phe Leu Arg Leu Ser Trp Leu Leu Gln Ser 260 265 270

Ile Ile Phe Val Ser Gln Met Pro Thr His Tyr Tyr Asp Tyr Tyr Arg 275 280 285

Asn Thr Ala Ile Tyr Glu Gln Val Gly Leu Ser Leu His Trp Ala Trp 290 295 300

Ser Leu Gly Gln Leu Tyr Phe Leu Pro Asp Trp Ser Thr Arg Ile Met 305 310 315 320

Phe Phe Leu Val Ser His Leu Val Gly Gly Phe Leu Leu Ser His Val

Val Thr Phe Asn His Tyr Ser Val Glu Lys Phe Ala Leu Ser Ser Asn 340 345 350

Ile Met Ser Asn Tyr Ala Cys Leu Gln Ile Met Thr Thr Arg Asn Met 355 360 365

Arg Pro Gly Arg Phe Ile Asp Trp Leu Trp Gly Gly Leu Asn Tyr Gln 370 375 380

Ile Glu His His Leu Phe Pro Thr Met Pro Arg His Asn Leu Asn Thr 385 390 395 400

Val Met Pro Leu Val Lys Glu Phe Ala Ala Ala Asn Gly Leu Pro Tyr 405 410 415

Met Val Asp Asp Tyr Phe Thr Gly Phe Trp Leu Glu Ile Glu Gln Phe 420 425 430

Arg Asn Ile Ala Asn Val Ala Ala Lys Leu Thr Lys Lys Ile Ala 435 440 445

<210> 25

<211> 954

<212> DNA

<213> Mortierella alpina

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(954)

<223> Delta-6-Elongase

<400> 25

atg gcc gcc gca atc ttg gac aag gtc aac ttc ggc att gat cag ccc 48
Met Ala Ala Ile Leu Asp Lys Val Asn Phe Gly Ile Asp Gln Pro

1 5 10 15

ttc gga atc aag ctc gac acc tac ttt gct cag gcc tat gaa ctc gtc 96
Phe Gly Ile Lys Leu Asp Thr Tyr Phe Ala Gln Ala Tyr Glu Leu Val
20 25 30

acc gga aag tcc atc gac tcc ttc gtc ttc cag gag ggc gtc acg cct 144
Thr Gly Lys Ser Ile Asp Ser Phe Val Phe Gln Glu Gly Val Thr Pro
35 40 45

ctc tcg acc cag aga gag gtc gcc atg tgg act atc act tac ttc gtc 192

Leu Ser Thr Gln Arg Glu Val Ala Met Trp Thr Ile Thr Tyr Phe Val

50 55 60

gtc atc ttt ggt ggt cgc cag atc atg aag agc cag gac gcc ttc aag 240
Val Ile Phe Gly Gly Arg Gln Ile Met Lys Ser Gln Asp Ala Phe Lys
65 70 75 80

ctc aag ccc ctc ttc atc ctc cac aac ttc ctc ctg acg atc gcg tcc 288
Leu Lys Pro Leu Phe Ile Leu His Asn Phe Leu Leu Thr Ile Ala Ser
85 90 95

gga tcg ctg ttg ctc ctg ttc atc gag aac ctg gtc ccc atc ctc gcc 336
Gly Ser Leu Leu Leu Phe Ile Glu Asn Leu Val Pro Ile Leu Ala
100 105 110

aga aac gga ctt ttc tac gcc atc tgc gac gac ggt gcc tgg acc cag 384

Arg Asn Gly Leu Phe Tyr Ala Ile Cys Asp Asp Gly Ala Trp Thr Gln

115 120 125

_											gtc					432
Arg		Glu	Leu	Leu	Tyr		Leu	Asn	Tyr	Leu	Val	Lys	ıyr	Trp	GIU	
	130					135					140					
																400
_	-	_									aag -					480
Leu	Ala	Asp	Thr	Val		Leu	Val	Leu	Lys		Lys	Pro	Leu	GIU		
145					150					155					160	
							- 4					<b>-</b> ~~	+++	at a	a2a	528
_											ctc					320
Leu	His	Tyr	Phe		His	Ser	Met	Thr		vai	Leu	Cys	Pne		GIII	
				165					170					175		
							<b>.</b>				~++	200	ata	226	tta	576
	-										att					370
Leu	Gly	GIA		Thr	ser	vaı	Ser		vaı	PIO	Ile	1111	190	ASII	nea	
			180					185					190			
					_ 4			<b>-</b>	<b>+</b> 2.0	250	~~~	tac	act	<b>~</b> ~~	aat	624
											cgc					024
Thr	Val		Val	Pne	met	Tyr		TYL	TAT	Mec	Arg	205	Ala	AIG	Gly	
		195					200					203				
			<b>.</b>				<b>+</b> > <b>a</b>	++~	200	ac+	ctc	cad	atc	atc	cad	672
-	-										ctc					0,2
Val	_	He	Trp	Trp	гÀг		Tyr	ren	THE	THE	Leu	GIII	TIE	Val	GIII	
	210		•			215					220					
										-~~	~~~	<b>t</b> 2.0	200	tag	ttc	720
	-										gcc					,20
	Val	Leu	Asp	Leu		Pne	TTE	ıyr	Pne		Ala	TAT	THE	IĀĪ	240	
225					230					235					240	
							~~+		220	at a	~~~	224	tac	acc	aat	768
_											ggc					,00
Ala	Phe	Thr	Tyr		Pro	Trp	Ala	Pro		vaı	Gly	гу	Cys	255	GIŞ	
				245					250					233		
										a+ a	ata	too	200	+=+	ctc	816
											ctc					010
Thr	GIU	GIY		Ala	Leu	Pne	GIÅ		GIA	Leu	Leu	Ser	270	TYL	Tierr	
			260					265					210			
<b>4.</b> 4	<b>a -</b> -		2+4	276	++~	tac	646	a++	acc	tec	aat	acc	aac	מככ	aag	864
_											Asn					
⊾eu	rea			ASI	rne	TAL		116	1111	тÅт	VOII	285	ב עם		2,0	
		275					280					200				

gca gcc aag gag cgt gga agc aac ttt acc ccc aag act gtc aag tcc Ala Ala Lys Glu Arg Gly Ser Asn Phe Thr Pro Lys Thr Val Lys Ser 

ggc gga tcg ccc aag aag ccc tcc aag agc aag cac atc taa Gly Gly Ser Pro Lys Lys Pro Ser Lys Ser Lys His Ile 

<210> 26

<211> 317

<212> PRT

<213> Mortierella alpina

<400> 26

Met Ala Ala Ile Leu Asp Lys Val Asn Phe Gly Ile Asp Gln Pro 

Phe Gly Ile Lys Leu Asp Thr Tyr Phe Ala Gln Ala Tyr Glu Leu Val 

Thr Gly Lys Ser Ile Asp Ser Phe Val Phe Gln Glu Gly Val Thr Pro 

Leu Ser Thr Gln Arg Glu Val Ala Met Trp Thr Ile Thr Tyr Phe Val 

Val Ile Phe Gly Gly Arg Gln Ile Met Lys Ser Gln Asp Ala Phe Lys 

Leu Lys Pro Leu Phe Ile Leu His Asn Phe Leu Leu Thr Ile Ala Ser 

Gly Ser Leu Leu Leu Phe Ile Glu Asn Leu Val Pro Ile Leu Ala 

Arg Asn Gly Leu Phe Tyr Ala Ile Cys Asp Asp Gly Ala Trp Thr Gln 

70

Arg Leu Glu Leu Leu Tyr Tyr Leu Asn Tyr Leu Val Lys Tyr Trp Glu 130 135 140

Leu Ala Asp Thr Val Phe Leu Val Leu Lys Lys Pro Leu Glu Phe 145 150 155 160

Leu His Tyr Phe His His Ser Met Thr Met Val Leu Cys Phe Val Gln
165 170 175

Leu Gly Gly Tyr Thr Ser Val Ser Trp Val Pro Ile Thr Leu Asn Leu 180 185 190

Thr Val His Val Phe Met Tyr Tyr Tyr Tyr Met Arg Ser Ala Ala Gly
195 200 205

Val Arg Ile Trp Trp Lys Gln Tyr Leu Thr Thr Leu Gln Ile Val Gln 210 215 220

Phe Val Leu Asp Leu Gly Phe Ile Tyr Phe Cys Ala Tyr Thr Tyr Phe 225 230 235 240

Ala Phe Thr Tyr Phe Pro Trp Ala Pro Asn Val Gly Lys Cys Ala Gly 245 250 255

Thr Glu Gly Ala Ala Leu Phe Gly Cys Gly Leu Leu Ser Ser Tyr Leu 260 265 270

Leu Leu Phe Ile Asn Phe Tyr Arg Ile Thr Tyr Asn Ala Lys Ala Lys 275 280 285

Ala Ala Lys Glu Arg Gly Ser Asn Phe Thr Pro Lys Thr Val Lys Ser 290 295 300

Gly Gly Ser Pro Lys Lys Pro Ser Lys Ser Lys His Ile 305 310 315

<210> 27

<211> 1320

<212> DNA

<213> Thraustochytrium

<2	20>
----	-----

<221> CDS

<222> (1)..(1320)

<223> Delta-5-Desaturase

## <400> 27

- Met Gly Lys Gly Ser Glu Gly Arg Ser Ala Ala Arg Glu Met Thr Ala 15 10 5 1
- gag gcg aac ggc gac aag cgg aaa acg att ctg atc gag ggc gtc ctg 96 Glu Ala Asn Gly Asp Lys Arg Lys Thr Ile Leu Ile Glu Gly Val Leu 25 30 20
- tac gac gcg acg aac ttt aag cac ccg ggc ggt tcg atc atc aac ttc Tyr Asp Ala Thr Asn Phe Lys His Pro Gly Gly Ser Ile Ile Asn Phe 45 35 40
- ttg acc gag ggc gag gcc ggc gtg gac gcg acg cag gcg tac cgc gag 192 Leu Thr Glu Gly Glu Ala Gly Val Asp Ala Thr Gln Ala Tyr Arg Glu 60 55 50
- ttt cat cag cgg tcc ggc aag gcc gac aag tac ctc aag tcg ctg ccg 240 Phe His Gln Arg Ser Gly Lys Ala Asp Lys Tyr Leu Lys Ser Leu Pro 75 80 70 65
- aag ctg gat gcg tcc aag gtg gag tcg cgg ttc tcg gcc aaa gag cag Lys Leu Asp Ala Ser Lys Val Glu Ser Arg Phe Ser Ala Lys Glu Gln 95 90 85
- geg egg ege gac gec atg acg ege gac tac geg gec ttt ege gag gag 336 Ala Arg Arg Asp Ala Met Thr Arg Asp Tyr Ala Ala Phe Arg Glu Glu 105 110 100
- ctc gtc gcc gag ggg tac ttt gac ccg tcg atc ccg cac atg att tac 384 Leu Val Ala Glu Gly Tyr Phe Asp Pro Ser Ile Pro His Met Ile Tyr 125 120 115

															_		420
							gcg										432
A	rg	Val	Val	Glu	Ile	Val	Ala	Leu	Phe	Ala	Leu	Ser	Phe	Trp	Leu	Met	
		130					135					140					
t	cc	aag	gcc	tcg	ccc	acc	tcg	ctc	gtg	ctg	ggc	gtg	gtg	atg	aac	ggc	480
s	er	Lys	Ala	Ser	Pro	Thr	Ser	Leu	Val	Leu	Gly	Val	Val	Met	Asn	Gly	
	45	_				150					155					160	
a	tt	aca	caq	ggc	cgc	tgc	ggc	tgg	gtc	atg	cac	gág	atg	ggc	cac	ggg	528
							Gly										
-				,	165	-3-		-		170					175		
+	~~	ttc	aco	aac	atc	atc	tgg	ctc	σac	gac	caa	atg	tgc	gag	ttc	ttc	576
							Trp										
3	er	FILE	1111	180	Val	110		500	185		3		•	190			
				100					103								
						~~~	atg	200	~~~	cac	tac	taa	аас	aac	cad	cac	624
Т	yr	GIÀ		GIY	Cys	GTA	Met		GIY	nis	TAT	TIP	205	ASII.	9111		
			195					200					205				
																	677
							ccc										672
S	er	Lys	His	His	Ala	Ala	Pro	Asn	Arg	Leu	Glu	His	Asp	Val	Asp	Leu	
		210					215					220					
ā	ac	acg	ctg	CCC	ctg	gtc	gcc	ttt	aac	gag	cgc	gtc	gtg	cgc	aag	gtc	720
A	sn	Thr	Leu	Pro	Leu	Val	Ala	Phe	Asn	Glu	Arg	Val	Val	Arg	Lys	Val	
2	25					230					235					240	
a	ag	ccg	gga	tcg	ctg	ctg	gcg	ctc	tgg	ctg	cgc	gtg	cag	gcg	tac	ctc	768
I	ys	Pro	Gly	Ser	Leu	Leu	Ala	Leu	Trp	Leu	Arg	Val	Gln	Ala	Tyr	Leu	
					245					250					255		
t	-++	aca	ccc	atc	tca	tac	cta	ctc	atc	ggc	ctt	ggc	tgg	acg	ctc	tac	816
		-														Tyr	
•		71.4	110	260	501	-, -			265			_		270			
				200													
,	-+ <i>-</i> -	020		Cac	tac	ato	cta	כמר	acc	aan	caa	cac	ato	gag	tto	gtc	864
																Val	
1	Leu	nlS	PTO	AIG	τλτ	rie (. neu	. ALG	TITE	ny 5	ALG		1100				

`	VO 03	3/0934	82							73				P	CT/EP0	3/04297
taa	atc	ttc	aca	cgc	tac	att	ggc	tgg	ttc	tcg	ctc	atg	ggc	gct	ctc	912
-				Arg												
	290					295					300					
ggc	tac	tcg	ccg	ggc	acc	tcg	gtc	ggg	atg	tac	ctg	tgc	tcg	ttc	ggc	960
Gly	Tyr	Ser	Pro	Gly	Thr	Ser	Val	Gly	Met	Tyr	Leu	Cys	Ser	Phe	Gly	
305					310					315					320	
ctc	ggc	tgc	att	tac	att	ttc	ctg	cag	ttc	gcc	gtc	agc	cac	acg	cac	1008
Leu	Gly	Cys	Ile	Tyr	Ile	Phe	Leu	Gln	Phe	Ala	Val	Ser	His	Thr	His	
				325					330					335		
				aac												1056
Leu	Pro	Val	Thr	Asn	Pro	Glu	Asp	Gln	Leu	His	Trp	Leu		Tyr	Ala	
			340					345					350			
_	-			gtg				•								1104
Ala	Asp		Thr	Val	Asn	Ile		Thr	Lys	Ser	Trp		Val	Thr	Trp	
		355					360					365				,
												ata	++0	000	200	1152
	_	_		ctg												1132
Trp		Ser	ASN	Leu	ASI	375	GIII	TIE	GIU	urs	380	Dea	FILE	FIU	1111	
	370					3/3					300					
מכמ	cca	cad	ttc	cgc	ttc	aaσ	gaa	atc	agt	cct	cac	atc	gag	acc	ctc	1200
				Arg												
385					390		-			395	Ī				400	
ttc	aag	cgc	cac	aac	ctc	ccg	tac	tac	gac	ctg	ccc	tac	acg	agc	gcg	1248
				Asn												
				405					410					415		
gtc	tcg	acc	acc	ttţ	gcc	aat	ctt	tat	tcc	gtc	ggc	cac	tcg	gtc	ggc	1296
Val	Ser	Thr	Thr	Phe	Ala	Asn	Leu	Tyr	Ser	Val	Gly	His	Ser	Val	Gly	
			420					425					430			
gcc	gac	acc	aag	aag	cag	gac	tga									1320
Ala	Asp	Thr	Lys	Lys	Gln	Asp										
		435			•		440									

<210> 28

<211> 439

<212> PRT

<213> Thraustochytrium

<400> 28

Met Gly Lys Gly Ser Glu Gly Arg Ser Ala Ala Arg Glu Met Thr Ala 1 5 10 15

Glu Ala Asn Gly Asp Lys Arg Lys Thr Ile Leu Ile Glu Gly Val Leu 20 25 30

Tyr Asp Ala Thr Asn Phe Lys His Pro Gly Gly Ser Ile Ile Asn Phe 35 40 45

Leu Thr Glu Gly Glu Ala Gly Val Asp Ala Thr Gln Ala Tyr Arg Glu
50 55 60

Phe His Gln Arg Ser Gly Lys Ala Asp Lys Tyr Leu Lys Ser Leu Pro 65 70 75 80

Lys Leu Asp Ala Ser Lys Val Glu Ser Arg Phe Ser Ala Lys Glu Gln 85 90 95

Ala Arg Arg Asp Ala Met Thr Arg Asp Tyr Ala Ala Phe Arg Glu Glu
100 105 110

Leu Val Ala Glu Gly Tyr Phe Asp Pro Ser Ile Pro His Met Ile Tyr
115 120 125

Arg Val Val Glu Ile Val Ala Leu Phe Ala Leu Ser Phe Trp Leu Met
130 135 140

Ser Lys Ala Ser Pro Thr Ser Leu Val Leu Gly Val Val Met Asn Gly
145 150 155 160

Ile Ala Gln Gly Arg Cys Gly Trp Val Met His Glu Met Gly His Gly
165 170 175

Ser Phe Thr Gly Val Ile Trp Leu Asp Asp Arg Met Cys Glu Phe Phe 180 185 190

Tyr Gly Val Gly Cys Gly Met Ser Gly His Tyr Trp Lys Asn Gln His 195 200 205

Ser Lys His His Ala Ala Pro Asn Arg Leu Glu His Asp Val Asp Leu 210 215 220

Asn Thr Leu Pro Leu Val Ala Phe Asn Glu Arg Val Val Arg Lys Val 225 230 235 240

Lys Pro Gly Ser Leu Leu Ala Leu Trp Leu Arg Val Gln Ala Tyr Leu 245 250 255

Phe Ala Pro Val Ser Cys Leu Leu Ile Gly Leu Gly Trp Thr Leu Tyr 260 265 270

Leu His Pro Arg Tyr Met Leu Arg Thr Lys Arg His Met Glu Phe Val 275 280 285

Trp Ile Phe Ala Arg Tyr Ile Gly Trp Phe Ser Leu Met Gly Ala Leu 290 295 300

Gly Tyr Ser Pro Gly Thr Ser Val Gly Met Tyr Leu Cys Ser Phe Gly 305 310 315 320

Leu Gly Cys Ile Tyr Ile Phe Leu Gln Phe Ala Val Ser His Thr His 325 330 335

Leu Pro Val Thr Asn Pro Glu Asp Gln Leu His Trp Leu Glu Tyr Ala 340 345 350

Ala Asp His Thr Val Asn Ile Ser Thr Lys Ser Trp Leu Val Thr Trp 355 360 365

Trp Met Ser Asn Leu Asn Phe Gln Ile Glu His His Leu Phe Pro Thr 370 375 380

Ala Pro Gln Phe Arg Phe Lys Glu Ile Ser Pro Arg Val Glu Ala Leu

WO 03/093482		PCT/EP03/04297
	76	

385 390 395 400

Phe Lys Arg His Asn Leu Pro Tyr Tyr Asp Leu Pro Tyr Thr Ser Ala 405 410 415

Val Ser Thr Thr Phe Ala Asn Leu Tyr Ser Val Gly His Ser Val Gly 420 425 430

Ala Asp Thr Lys Lys Gln Asp 435

<210> 29

<211> 957

<212> DNA

<213> Mortierella alpina

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(957)

<223> Delta-6-Elongase

<400> 29

atg gag tcg att gcg cca ttc ctc cca tca aag atg ccg caa gat ctg

Met Glu Ser Ile Ala Pro Phe Leu Pro Ser Lys Met Pro Gln Asp Leu

1 5 10 15

ttt atg gac ctt gcc acc gct atc ggt gtc cgg gcc gcg ccc tat gtc 96
Phe Met Asp Leu Ala Thr Ala Ile Gly Val Arg Ala Ala Pro Tyr Val
20 25 30

gat cct ctc gag gcc gcg ctg gtg gcc cag gcc gag aag tac atc ccc 144
Asp Pro Leu Glu Ala Ala Leu Val Ala Gln Ala Glu Lys Tyr Ile Pro
35 40 45

acg att gtc cat cac acg cgt ggg ttc ctg gtc gcg gtg gag tcg cct 192

Thr Ile Val His His Thr Arg Gly Phe Leu Val Ala Val Glu Ser Pro

50 55 60

ttg gcc cgt gag ctg ccg ttg atg aac ccg ttc cac gtg ctg ttg atc 240

WO 03/093482		PCT/EP03/04297
	77 ·	

Leu 65	Ala	Arg	Glu	Leu	Pro 70	Leu	Met	Asn	Pro	Phe 75	His	Val	Leu	Leu	Ile 80	
gtg	ctc	gct	tat	ttg	gtc	acg	gtc	ttt	gtg	ggc	atg	cag	atc	atg	aag	288
Val	Leu	Ala	Tyr	Leu	Val	Thr	Val	Phe	Val	Gly	Met	Gln	Ile	Met	Lys	
				85					90					95		
aac	ttt	gag	cgg	ttc	gag	gtc	aag	acg	ttt	tcg	ctc	ctg	cac	aac	ttt	336
Asn	Phe	Glu	Arg	Phe	Glu	Val	Lys	Thr	Phe	Ser	Leu	Leu	His	Asn	Phe	
			100					105					110			
tgt	ctg	gtc	tcg	atc	agc	gcc	tac	atg	tgc	ggt	ggg	atc	ctg	tac	gag	384
Cys	Leu	Val	Ser	Ile	Ser	Ala	Tyr	Met	Cys	Gly	Gly	Ile	Leu	Tyr	Glu	
		115					120					125				
gct	tat	cag	gcc	aac	tat	gga	ctg	ttt	gag	aac	gct	gct	gat	cat	acc	432
Ala	Tyr	Gln	Ala	Asn	Tyr	Gly	Leu	Phe	Glu	Asn	Ala	Ala	Asp	His	Thr	
	130					135					140					
ttc	aag	ggt	ctt	cct	atg	gcc	aag	atg	atc	tgg	ctc	ttc	tac	ttc	tcc	480
Phe	Lys	Gly	Leu	Pro	Met	Ala	Lys	Met	Ile	Trp	Leu	Phe	Tyr	Phe	Ser	
145					150					155					160	
aag	atc	atg	gag	ttt	gtc	gac	acc	atg	atc	atg	gtc	ctc	aag	aag	aac	528
Lys	Ile	Met	Glu	Phe	Val	Asp	Thr	Met	Ile	Met	Val	Leu	Lys	Lys	Asn	
				165					170					175		
	_	_		tcc												576
Asn	Arg	Gln	Ile	Ser	Phe	Leu	His	Val	Tyr	His	His	Ser		Ile	Phe	
			180					185					190			
				ttg												624
Thr	Ile	Trp	Trp	Leu	Val	Thr	Phe	Val	Ala	Pro	Asn		Glu	Ala	Tyr	
		195					200					205				
																
				ttg												672
Phe	Ser	Ala	Ala	Leu	Asn		Phe	Ile	His	Val		Met	Tyr	Gly	Tyr	
	210					215					220					
						٠							_ = -		.	720
tac	ttc	ttg	tcg	gcc	ttg	gg¢	ttc	aag	cag	gtg	tcg	ttc	atc	aag	LLC	720

•	VO 03	3/0934	82				78								PCT/EP03/04297		
Tyr	Phe	Leu	Ser	Ala	Leu	Gly	Phe	Lys	Gln	Val	Ser	Phe	Ile	Lys	Phe		
225					230					235					240		
tac	atc	acg	cgc	tcg	cag	atg	aca	cag	ttc	tgc	atg	atg	tcg	gtc	cag	768	
			Arg														
				245					250		•			255			
tct	tcc	tgg	gac	atg	tac	gcc	atg	aag	gtc	ctt	ggc	cgc	ccc	gga	tac	816	
			Asp														
			260					265					270				
ccc	ttc	ttc	atc	acg	gct	ctg	ctt	tgg	ttc	tac	atg	tgg	acc	atg	ctc	864	
			Ile														
		275					280				•	285					
									•								
ggt	ctc	ttc	tac	aac	ttt	tac	aga	aag	aac	gcc	aag	ttg	gcc	aag	cag	912	
Gly	Leu	Phe	Tyr	Asn	Phe	Tyr	Arg	Lys	Asn	Ala	Lys	Leu	Ala	Lys	Gln		
	290					295					300						
gcc	aag	gcc	gac	gct	gcc	aag	gag	aag	gca	agg	aag	ttg	cag	taa		957	
-			Asp														
305	-4-		*-	_	310	•		-		315	-						
303					210					J_J							

<210> 30

<211> 318

<212> PRT

<213> Mortierella alpina

<400> 30

Met Glu Ser Ile Ala Pro Phe Leu Pro Ser Lys Met Pro Gln Asp Leu 1 5 10 15

Phe Met Asp Leu Ala Thr Ala Ile Gly Val Arg Ala Ala Pro Tyr Val 20 25 30

Asp Pro Leu Glu Ala Ala Leu Val Ala Gln Ala Glu Lys Tyr Ile Pro 35 40 45

Thr Ile Val His His Thr Arg Gly Phe Leu Val Ala Val Glu Ser Pro

60

55

50

Leu Ala Arg Glu Leu Pro Leu Met Asn Pro Phe His Val Leu Leu Ile 65 70 75 80

Val Leu Ala Tyr Leu Val Thr Val Phe Val Gly Met Gln Ile Met Lys 85 90 95

Asn Phe Glu Arg Phe Glu Val Lys Thr Phe Ser Leu Leu His Asn Phe 100 105 110

Cys Leu Val Ser Ile Ser Ala Tyr Met Cys Gly Gly Ile Leu Tyr Glu 115 120 125

Ala Tyr Gln Ala Asn Tyr Gly Leu Phe Glu Asn Ala Ala Asp His Thr 130 135 140

Lys Ile Met Glu Phe Val Asp Thr Met Ile Met Val Leu Lys Lys Asn 165 170 175

Asn Arg Gln Ile Ser Phe Leu His Val Tyr His His Ser Ser Ile Phe 180 185 190

Thr Ile Trp Trp Leu Val Thr Phe Val Ala Pro Asn Gly Glu Ala Tyr
195 200 205

Phe Ser Ala Ala Leu Asn Ser Phe Ile His Val Ile Met Tyr Gly Tyr 210 215 220

Tyr Phe Leu Ser Ala Leu Gly Phe Lys Gln Val Ser Phe Ile Lys Phe 225 230 235 240

Tyr Ile Thr Arg Ser Gln Met Thr Gln Phe Cys Met Met Ser Val Gln
245 250 255

Ser Ser Trp Asp Met Tyr Ala Met Lys Val Leu Gly Arg Pro Gly Tyr 260 265 270

Pro Phe Phe Ile Thr Ala Leu Leu Trp Phe Tyr Met Trp Thr Met Leu 275 280 285

Gly Leu Phe Tyr Asn Phe Tyr Arg Lys Asn Ala Lys Leu Ala Lys Gln 290 295 300

Ala Lys Ala Asp Ala Ala Lys Glu Lys Ala Arg Lys Leu Gln 305 310 315

<210> 31

<211> 1374

<212> DNA

<213> Mortierella alpina

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1374)

<223> Delta-6-Desaturase

<400> 31

atg gct gct gct ccc agt gtg agg acg ttt act cgg gcc gag gtt ttg

Met Ala Ala Pro Ser Val Arg Thr Phe Thr Arg Ala Glu Val Leu

1 5 10 15

aat gcc gag gct ctg aat gag ggc aag aag gat gcc gag gca ccc ttc 96
Asn Ala Glu Ala Leu Asn Glu Gly Lys Lys Asp Ala Glu Ala Pro Phe
20 25 30

ttg atg atc atc gac aac aag gtg tac gat gtt cgc gag ttc gtc cct 144
Leu Met Ile Ile Asp Asn Lys Val Tyr Asp Val Arg Glu Phe Val Pro
35 40 45

gat cat ccc ggt gga agt gtg att ctc acg cac gtt ggc aag gac ggc 192
Asp His Pro Gly Gly Ser Val Ile Leu Thr His Val Gly Lys Asp Gly
50 55 60

act gac gtc ttt gac act ttt cac ccc gag gct gct tgg gag act ctt 240
Thr Asp Val Phe Asp Thr Phe His Pro Glu Ala Ala Trp Glu Thr Leu

WO 03/093482			PCT/EP03/04297	
65	70		75	80

gcc aac ttt tac gtt ggt gat att gac gag agc gac cgc gat atc aag Ala Asn Phe Tyr Val Gly Asp Ile Asp Glu Ser Asp Arg Asp Ile Lys aat gat gac ttt gcg gcc gag gtc cgc aag ctg cgt acc ttg ttc cag Asn Asp Asp Phe Ala Ala Glu Val Arg Lys Leu Arg Thr Leu Phe Gln tet ett ggt tac tac gat tet tee aag gea tac tac gee tte aag gte Ser Leu Gly Tyr Tyr Asp Ser Ser Lys Ala Tyr Tyr Ala Phe Lys Val teg tte aac etc tge atc tgg ggt ttg teg acg gte att gtg gee aag Ser Phe Asn Leu Cys Ile Trp Gly Leu Ser Thr Val Ile Val Ala Lys tgg ggc cag acc tcg acc ctc gcc aac gtg ctc tcg gct gcg ctt ttg Trp Gly Gln Thr Ser Thr Leu Ala Asn Val Leu Ser Ala Ala Leu Leu ggt ctg ttc tgg cag cag tgc gga tgg ttg gct cac gac ttt ttg cat Gly Leu Phe Trp Gln Gln Cys Gly Trp Leu Ala His Asp Phe Leu His cac cag gtc ttc cag gac cgt ttc tgg ggt gat ctt ttc ggc gcc ttc His Gln Val Phe Gln Asp Arg Phe Trp Gly Asp Leu Phe Gly Ala Phe ttg gga ggt gtc tgc cag ggc ttc tcg tcc tcg tgg tgg aag gac aag Leu Gly Gly Val Cys Gln Gly Phe Ser Ser Ser Trp Trp Lys Asp Lys cac aac act cac cac gcc gcc ccc aac gtc cac ggc gag gat ccc gac His Asn Thr His His Ala Ala Pro Asn Val His Gly Glu Asp Pro Asp

att gac acc cac cct ctg ttg acc tgg agt gag cat gcg ttg gag atg 720

The Asp Thr His Pro Leu Leu Thr Trp Ser Glu His Ala Leu Glu Met

WO 03/093482		PCT/EP03/04297
	82	

,	• ••	., 0, 0 .							1	82				•	CI/LI	,0,04251
225					230					235					240	
ttc	tcg	gat	gtc	cca	gat	gag	gag	ctg	acc	cgc	atg	tgg	tcg	cgt	ttc	768
Phe	Ser	Asp	Val	Pro	Asp	Glu	Glu	Leu	Thr	Arg	Met	Trp	Ser	Arg	Phe	
				245				•	250					255		
atg	gtc	ctg	aac	cag	acc	tgg	ttt	tac	ttc	ccc	att	ctc	tcg	ttt	gcc	816
Met	Val	Leu	Asn	Gln	Thr	Trp	Phe	Tyr	Phe	Pro	Ile	Leu	Ser	Phe	Ala	
			260					265					270			
cgt	ctc	tcc	tgg	tgc	ctc	cag	tcc	att	ctc	ttt	gtg	ctg	cct	aac	ggt	864
Arg	Leu	Ser	Trp	Cys	Leu	Gln	Ser	Ile	Leu	Phe	Val	Leu	Pro	Asn	Gly	
		275					280					285				
	:															
cag	gcc	cac	aag	ccc	tcg	ggc	gcg	cgt	gtg	CCC	atc	tcg	ttg	gtc	gag	912
Gln	Ala	His	Lys	Pro	Ser	Gly	Ala	Arg	Val	Pro	Ile	Ser	Leu	Val	Glu	
	290					295					300					
						cac										960
Gln	Leu	Ser	Leu	Ala	Met	His	Trp	Thr	Trp	Tyr	Leu	Ala	Thr	Met	Phe	
305					310					315					320	
						gtc										1008
Leu	Phe	Ile	Lys	Asp	Pro	Val	Asn	Met		Val	Tyr	Phe	Leu		Ser	
				325					330					335		
						ttg										1056
Gln	Ala	Val	Cys	Gly	Asn	Leu	Leu		Ile	Val	Phe	Ser		Asn	His	
			340					345					350			
						tcg										1104
Asn	Gly	Met	Pro	Val	Ile	Ser		Glu	Glu	Ala	Val		Met	Asp	Phe	
		355					360					365				
																1150
						acg										1152
Phe		Lys	Gln	Ile	Ile	Thr	Gly	Arg	qzA	Val		Pro	GIŢ	Leu	Pne	
	370					375					380					
							.		<u>.</u>		44.			636	t+~	1200
															ttg	1200
Ala	Asn	Trp	Phe	Thr	GLY	GIY	Leu	Asn	ıyr	GIN	тте	GIU	nis	nis	Leu	

WO 03/093482			PCT/EP03/04297		
385	390	395	400		

ttc cct tcg atg cct cgc cac aac ttt tca aag atc cag cct gct gtc 1248

Phe Pro Ser Met Pro Arg His Asn Phe Ser Lys Ile Gln Pro Ala Val

405 410 415

gag acc ctg tgc aaa aag tac aat gtc cga tac cac acc acc ggt atg 1296
Glu Thr Leu Cys Lys Lys Tyr Asn Val Arg Tyr His Thr Thr Gly Met
420 425 430

atc gag gga act gca gag gtc ttt agc cgt ctg aac gag gtc tcc aag 1344

Ile Glu Gly Thr Ala Glu Val Phe Ser Arg Leu Asn Glu Val Ser Lys
435 440 445

gct gcc tcc aag atg ggt aag gcg cag taa 1374
Ala Ala Ser Lys Met Gly Lys Ala Gln
450 455

<210> 32

<211> 457

<212> PRT

<213> Mortierella alpina

<400> 32

Met Ala Ala Pro Ser Val Arg Thr Phe Thr Arg Ala Glu Val Leu

1 5 10 15

Asn Ala Glu Ala Leu Asn Glu Gly Lys Lys Asp Ala Glu Ala Pro Phe 20 25 30

Leu Met Ile Ile Asp Asn Lys Val Tyr Asp Val Arg Glu Phe Val Pro 35 40 45

Asp His Pro Gly Gly Ser Val Ile Leu Thr His Val Gly Lys Asp Gly 50 55 60

Thr Asp Val Phe Asp Thr Phe His Pro Glu Ala Ala Trp Glu Thr Leu 65 70 75 80

Ala Asn Phe Tyr Val Gly Asp Ile Asp Glu Ser Asp Arg Asp Ile Lys
85 90 95

- Asn Asp Asp Phe Ala Ala Glu Val Arg Lys Leu Arg Thr Leu Phe Gln
 100 105 110
- Ser Leu Gly Tyr Tyr Asp Ser Ser Lys Ala Tyr Tyr Ala Phe Lys Val 115 120 125
- Ser Phe Asn Leu Cys Ile Trp Gly Leu Ser Thr Val Ile Val Ala Lys 130 135 140
- Trp Gly Gln Thr Ser Thr Leu Ala Asn Val Leu Ser Ala Ala Leu Leu 145 150 155 160
- Gly Leu Phe Trp Gln Gln Cys Gly Trp Leu Ala His Asp Phe Leu His 165 170 175
- His Gln Val Phe Gln Asp Arg Phe Trp Gly Asp Leu Phe Gly Ala Phe 180 185 190
- Leu Gly Gly Val Cys Gln Gly Phe Ser Ser Ser Trp Trp Lys Asp Lys
 195 200 205
- His Asn Thr His His Ala Ala Pro Asn Val His Gly Glu Asp Pro Asp 210 215 220
- Ile Asp Thr His Pro Leu Leu Thr Trp Ser Glu His Ala Leu Glu Met
 225 230 235 240
- Phe Ser Asp Val Pro Asp Glu Glu Leu Thr Arg Met Trp Ser Arg Phe 245 250 255
- Met Val Leu Asn Gln Thr Trp Phe Tyr Phe Pro Ile Leu Ser Phe Ala 260 265 270
- Arg Leu Ser Trp Cys Leu Gln Ser Ile Leu Phe Val Leu Pro Asn Gly 275 280 285
- Gln Ala His Lys Pro Ser Gly Ala Arg Val Pro Ile Ser Leu Val Glu

85

290 295 300

Gln Leu Ser Leu Ala Met His Trp Thr Trp Tyr Leu Ala Thr Met Phe 305 310 315 320

Leu Phe Ile Lys Asp Pro Val Asn Met Leu Val Tyr Phe Leu Val Ser 325 330 335

Gln Ala Val Cys Gly Asn Leu Leu Ala Ile Val Phe Ser Leu Asn His 340 . 345 350

Asn Gly Met Pro Val Ile Ser Lys Glu Glu Ala Val Asp Met Asp Phe 355 360 365

Phe Thr Lys Gln Ile Ile Thr Gly Arg Asp Val His Pro Gly Leu Phe 370 375 380

Ala Asn Trp Phe Thr Gly Gly Leu Asn Tyr Gln Ile Glu His His Leu 385 390 395 400

Phe Pro Ser Met Pro Arg His Asn Phe Ser Lys Ile Gln Pro Ala Val 405 410 415

Glu Thr Leu Cys Lys Lys Tyr Asn Val Arg Tyr His Thr Thr Gly Met
420 425 430

Ile Glu Gly Thr Ala Glu Val Phe Ser Arg Leu Asn Glu Val Ser Lys
435 440 445

Ala Ala Ser Lys Met Gly Lys Ala Gln 450 455

<210> 33

<211> 3598

<212> DNA

<213> Unknown

<220>

<223> Sequenz stellt eine pflanzliche

Promotor-Terminator-Expressionskassette in Vektor pUC19 dar

<400> 33 tcgcgcgttt cggtgatgac ggtgaaaacc tctgacacat gcagctcccg gagacggtca 60 cagcttgtct gtaagcggat gccgggagca gacaagcccg tcagggcgcg tcagcgggtg 120 ttggcgggtg tcggggctgg cttaactatg cggcatcaga gcagattgta ctgagagtgc 180 accatatgcg gtgtgaaata ccgcacagat gcgtaaggag aaaataccgc atcaggcgcc 240 attegecatt caggetgege aactgttggg aagggegate ggtgegggee tettegetat 300 tacgccagct ggcgaaaggg ggatgtgctg caaggcgatt aagttgggta acgccagggt 360 tttcccagtc acgacgttgt aaaacgacgg ccagtgaatt cggcgcgccg agctcctcga 420 gcaaatttac acattgccac taaacgtcta aacccttgta atttgttttt gttttactat 480 gtgtgttatg tatttgattt gcgataaatt tttatatttg gtactaaatt tataacacct 540 tttatgctaa cgtttgccaa cacttagcaa tttgcaagtt gattaattga ttctaaatta 600 tttttgtctt ctaaatacat atactaatca actggaaatg taaatatttg ctaatatttc 660 tactatagga gaattaaagt gagtgaatat ggtaccacaa ggtttggaga tttaattgtt 720 gcaatgctgc atggatggca tatacaccaa acattcaata attcttgagg ataataatgg 780 taccacacaa gatttgaggt gcatgaacgt cacgtggaca aaaggtttag taatttttca 840 agacaacaat gttaccacac acaagttttg aggtgcatgc atggatgccc tgtggaaagt 900 ttaaaaatat tttggaaatg atttgcatgg aagccatgtg taaaaccatg acatccactt 960 ggaggatgca ataatgaaga aaactacaaa tttacatgca actagttatg catgtagtct 1020 atataatgag gattttgcaa tactttcatt catacacact cactaagttt tacacgatta 1080

taatttette atagecagee cacegeggtg ggeggeegee tgeagtetag aaggeeteet 1140 gctttaatga gatatgcgag acgcctatga tcgcatgata tttgctttca attctgttgt 1200 gcacgttgta aaaaacctga gcatgtgtag ctcagatcct taccgccggt ttcggttcat 1260 totaatgaat atatoacccg ttactatcgt atttttatga ataatattct ccgttcaatt 1320 tactgattgt ccgtcgacga attcgagctc ggcgcgccaa gcttggcgta atcatggtca 1380 tagctgtttc ctgtgtgaaa ttgttatccg ctcacaattc cacacaacat acgagccgga 1440 agcataaagt gtaaagcctg gggtgcctaa tgagtgagct aactcacatt aattgcgttg 1500 cgctcactgc ccgctttcca gtcgggaaac ctgtcgtgcc agctgcatta atgaatcggc 1560 caacgcgcgg ggagaggcgg tttgcgtatt gggcgctctt ccgcttcctc gctcactgac 1620 tcgctgcgct cggtcgttcg gctgcggcga gcggtatcag ctcactcaaa ggcggtaata 1680 cggttatcca cagaatcagg ggataacgca ggaaagaaca tgtgagcaaa aggccagcaa 1740 aaggccagga accgtaaaaa ggccgcgttg ctggcgtttt tccataggct ccgccccct 1800 gacgagcatc acaaaaatcg acgctcaagt cagaggtggc gaaacccgac aggactataa 1860 agataccagg cgtttccccc tggaagctcc ctcgtgcgct ctcctgttcc gaccctgccg 1920 cttaccggat acctgtccgc ctttctccct tcgggaagcg tggcgctttc tcatagctca 1980 cgctgtaggt atctcagttc ggtgtaggtc gttcgctcca agctgggctg tgtgcacgaa 2040 cccccgttc agcccgaccg ctgcgcctta tccggtaact atcgtcttga gtccaacccg 2100 gtaagacacg acttatcgcc actggcagca gccactggta acaggattag cagagcgagg 2160 tatgtaggcg gtgctacaga gttcttgaag tggtggccta actacggcta cactagaagg 2220 acagtatttg gtatctgcgc tctgctgaag ccagttacct tcggaaaaag agttggtagc 2280

tottgatocg gcaaacaaac caccgotggt agoggtggtt tttttgtttg caagcagcag 2340 attacgcgca gaaaaaaagg atctcaagaa gatcctttga tcttttctac ggggtctgac 2400 gctcagtgga acgaaaactc acgttaaggg attttggtca tgagattatc aaaaaggatc 2460 ttcacctaga tccttttaaa ttaaaaatga agttttaaat caatctaaag tatatatgag 2520 taaacttggt ctgacagtta ccaatgctta atcagtgagg cacctatctc agcgatctgt 2580 ctatttcgtt catccatagt tgcctgactc cccgtcgtgt agataactac gatacgggag 2640 ggcttaccat ctggccccag tgctgcaatg ataccgcgag acccacgctc accggctcca 2700 gatttatcag caataaacca gccagccgga agggccgagc gcagaagtgg tcctgcaact 2760 ttatccgcct ccatccagtc tattaattgt tgccgggaag ctagagtaag tagttcgcca 2820 gttaatagtt tgcgcaacgt tgttgccatt gctacaggca tcgtggtgtc acgctcgtcg 2880 tttggtatgg cttcattcag ctccggttcc caacgatcaa ggcgagttac atgatccccc 2940 atgttgtgca aaaaagcggt tagctccttc ggtcctccga tcgttgtcag aagtaagttg 3000 gccgcagtgt tatcactcat ggttatggca gcactgcata attctcttac tgtcatgcca 3060 tecgtaagat gettttetgt gactggtgag tactcaacca agtcattetg agaatagtgt 3120 atgeggegae egagttgete ttgeeeggeg teaataeggg ataataeege geeacatage 3180 agaactttaa aagtgctcat cattggaaaa cgttcttcgg ggcgaaaact ctcaaggatc 3240 ttaccgctgt tgagatccag ttcgatgtaa cccactcgtg cacccaactg atcttcagca 3300 tettttaett teaceagegt ttetgggtga geaaaaacag gaaggeaaaa tgeegeaaaa 3360 aagggaataa gggcgacacg gaaatgttga atactcatac tcttcctttt tcaatattat 3420 tgaagcattt atcagggtta ttgtctcatg agcggataca tatttgaatg tatttagaaa 3480

aataaacaaa taggggttcc gcgcacattt ccccgaaaag tgccacctga cgtctaagaa 3540 accattatta tcatgacatt aacctataaa aataggcgta tcacgaggcc ctttcgtc 3598

<210> 34

<211> 3590

<212> DNA

<213> Unknown

<220>

<223> Sequenz stellt eine pflanzliche
Promotor-Terminator-Expressionskassette in Vektor
puC19 dar

teggegettt eggtgatgac ggtgaaaacc tetgacacat geageteeeg gagaceggtea 60
cagettgtet gtaageggat geegggagea gacaageeeg teagggegeg teagegggtg 120
ttggegggtg teggggetgg ettaactatg eggeateaga geagattgta etgagagtge 180
accatatgeg gtgtgaaata eegeacagat gegtaaggag aaaatacege ateaggegee 240
attegeeatt eaggetgege aactgttggg aagggegate ggtgegggee tettegetat 300
taegeeaget ggegaaaggg ggatgtgetg eaaggegatt aagttgggta aegeeagggt 360
ttteeeagte aegaegttgt aaaacgaegg eeagtgaatt eggegegeeg ageteetega 420
geaaatttac acattgeeae taaacgteta aaceettgta atttgtttt gttttaetat 480
gtgtgttatg tatttgattt gegataaatt tetatatttg gtaetaaatt tataacacet 540
tttatgetaa eggttgeeaa eacttageaa tttgeaagtt gattaattga ttetaaatta 600
tttttgtett etaaatacat ataetaatea aetggaaatg taaatatttg etaatttte 660
taetatagga gaattaaagt gagtgaatat ggtaecacaa ggtttggaga tttaattgtt 720

gcaatgctgc atggatggca tatacaccaa acattcaata attcttgagg ataataatgg 780 taccacacaa gatttgaggt gcatgaacgt cacgtggaca aaaggtttag taatttttca 840 agacaacaat gttaccacac acaagttttg aggtgcatgc atggatgccc tgtggaaagt 900 ttaaaaatat tttggaaatg atttgcatgg aagccatgtg taaaaccatg acatccactt 960 ggaggatgca ataatgaaga aaactacaaa tttacatgca actagttatg catgtagtct 1020 atataatgag gattttgcaa tactttcatt catacacact cactaagttt tacacgatta 1080 taatttette atageeageg gateegatat egggeeeget agegttaace etgetttaat 1140 gagatatgcg agacgcctat gatcgcatga tatttgcttt caattctgtt gtgcacgttg 1200 taaaaaacct gagcatgtgt agctcagatc cttaccgccg gtttcggttc attctaatga 1260 atatatcacc cgttactatc gtatttttat gaataatatt ctccgttcaa tttactgatt 1320 gtccgtcgac gaattcgagc tcggcgcgcc aagcttggcg taatcatggt catagctgtt 1380 tcctgtgtga aattgttatc cgctcacaat tccacacaac atacgagccg gaagcataaa 1440 gtgtaaagcc tggggtgcct aatgagtgag ctaactcaca ttaattgcgt tgcgctcact 1500 gcccgctttc cagtcgggaa acctgtcgtg ccagctgcat taatgaatcg gccaacgcgc 1560 ggggagaggc ggtttgcgta ttgggcgctc ttccgcttcc tcgctcactg actcgctgcg 1620 ctcggtcgtt cggctgcggc gagcggtatc agctcactca aaggcggtaa tacggttatc 1680 cacagaatca ggggataacg caggaaagaa catgtgagca aaaggccagc aaaaggccag 1740 gaaccgtaaa aaggccgcgt tgctggcgtt tttccatagg ctccgcccc ctgacgagca 1800 tcacaaaaat cgacgctcaa gtcagaggtg gcgaaacccg acaggactat aaagatacca 1860 ggcgtttccc cctggaagct ccctcgtgcg ctctcctgtt ccgaccctgc cgcttaccgg 1920

atacctgtcc gcctttctcc cttcgggaag cgtggcgctt tctcatagct cacgctgtag 1980 qtatctcagt teggtgtagg tegttegete caagetggge tgtgtgcaeg aacceecegt 2040 tcagcccgac cgctgcgcct tatccggtaa ctatcgtctt gagtccaacc cggtaagaca 2100 cgacttatcg ccactggcag cagccactgg taacaggatt agcagagcga ggtatgtagg 2160 cggtgctaca gagttcttga agtggtggcc taactacggc tacactagaa ggacagtatt 2220 tggtatctgc gctctgctga agccagttac cttcggaaaa agagttggta gctcttgatc 2280 cggcaaacaa accaccgctg gtagcggtgg ttttttttgtt tgcaagcagc agattacgcg 2340 cagaaaaaaa ggatctcaag aagatccttt gatcttttct acggggtctg acgctcagtg 2400 gaacgaaaac tcacgttaag ggattttggt catgagatta tcaaaaagga tcttcaccta 2460 gatcctttta aattaaaaat gaagttttaa atcaatctaa agtatatatg agtaaacttg 2520 gtctgacagt taccaatgct taatcagtga ggcacctatc tcagcgatct gtctatttcg 2580 ttcatccata gttgcctgac tccccgtcgt gtagataact acgatacggg agggcttacc 2640 atctggccc agtgctgcaa tgataccgcg agacccacgc tcaccggctc cagatttatc 2700 agcaataaac cagccagccg gaagggccga gcgcagaagt ggtcctgcaa ctttatccgc 2760 ctccatccag totattaatt gttgccggga agctagagta agtagttcgc cagttaatag 2820 tttgcgcaac gttgttgcca ttgctacagg catcgtggtg tcacgctcgt cgtttggtat 2880 ggcttcattc agctccggtt cccaacgatc aaggcgagtt acatgatccc ccatgttgtg 2940 caaaaaagcg gttagctcct teggteetee gategttgte agaagtaagt tggeegeagt 3000 gttatcactc atggttatgg cagcactgca taattctctt actgtcatgc catccgtaag 3060 atgettttet gtgactggtg agtacteaac caagteatte tgagaatagt gtatgeggeg 3120

accgagttgc tcttgcccgg cgtcaatacg ggataatacc gcgccacata gcagaacttt 3180

aaaagtgctc atcattggaa aacgttcttc ggggcgaaaa ctctcaagga tcttaccgct 3240

gttgagatcc agttcgatgt aacccactcg tgcacccaac tgatcttcag catctttac 3300

tttcaccagc gtttctgggt gagcaaaaac aggaaggcaa aatgccgcaa aaaagggaat 3360

aagggcgaca cggaaatgtt gaatactcat actcttcctt tttcaatatt attgaagcat 3420

ttatcagggt tattgtctca tgagcggata catatttgaa tgtatttaga aaaataaaca 3480

aataggggtt ccgcgcacat ttccccgaaa agtgccacct gacgtctaag aaaccattat 3540

tatcatgaca ttaacctata aaaataggcg tatcacgagg ccctttcgtc 3590

- <210> 35
- <211> 3584
- <212> DNA
- <213> Unknown
- <220>
- <223> Sequenz stellt eine pflanzliche
 Promotor-Terminator-Expressionskassette in Vektor
 puC19 dar
- <400> 35
 tcgcgcgttt cggtgatgac ggtgaaaacc tctgacacat gcagctcccg gagacggtca 60
 cagcttgtct gtaagcggat gccgggagca gacaagcccg tcaggggcgg tcagcgggtg 120
 ttggcgggtg tcggggctgg cttaactatg cggcatcaga gcagattgta ctgagagtgc 180
 accatatgcg gtgtgaaata ccgcacagat gcgtaaggag aaaataccgc atcaggcgcc 240
 attcgccatt caggctgcgc aactgttggg aagggcgatc ggtgcgggcc tcttcgctat 300
 tacgccagct ggcgaaaggg ggatgtgctg caaggcgatt aagttgggta acgccaggt 360

tttcccagtc acgacgttgt aaaacgacgg ccagtgaatt cggcgcgccg agctcctcga 420 gcaaatttac acattgccac taaacgtcta aacccttgta atttgttttt gttttactat 480 gtgtgttatg tatttgattt gcgataaatt tttatatttg gtactaaatt tataacacct 540 tttatgctaa cgtttgccaa cacttagcaa tttgcaagtt gattaattga ttctaaatta 600 tttttgtctt ctaaatacat atactaatca actggaaatg taaatatttg ctaatatttc 660 tactatagga gaattaaagt gagtgaatat ggtaccacaa ggtttggaga tttaattgtt 720 gcaatgctgc atggatggca tatacaccaa acattcaata attcttgagg ataataatgg 780 taccacacaa gatttgaggt gcatgaacgt cacgtggaca aaaggtttag taatttttca 840 agacaacaat gttaccacac acaagttttg aggtgcatgc atggatgccc tgtggaaagt 900 ttaaaaatat tttggaaatg atttgcatgg aagccatgtg taaaaccatg acatccactt 960 ggaggatgca ataatgaaga aaactacaaa tttacatgca actagttatg catgtagtct 1020 atataatgag gattttgcaa tactttcatt catacacact cactaagttt tacacgatta 1080 taatttette atageeagea gatetgeegg categateee gggeeatgge etgetttaat 1140 gagatatgcg agacgcctat gatcgcatga tatttgcttt caattctgtt gtgcacgttg 1200 taaaaaacct gagcatgtgt agctcagatc cttaccgccg gtttcggttc attctaatga 1260 atatatcacc cgttactatc gtatttttat gaataatatt ctccgttcaa tttactgatt 1320 gtccgtcgac gagctcggcg cgccaagctt ggcgtaatca tggtcatagc tgtttcctgt 1380 gtgaaattgt tatccgctca caattccaca caacatacga gccggaagca taaagtgtaa 1440 agcctggggt gcctaatgag tgagctaact cacattaatt gcgttgcgct cactgcccgc 1500 tttccagtcg ggaaacctgt cgtgccagct gcattaatga atcggccaac gcgcggggag 1560

aggeggtttg egtattggge getetteege tteetegete actgaetege tgegeteggt 1620 cgttcggctg cggcgagcgg tatcagctca ctcaaaggcg gtaatacggt tatccacaga 1680 atcaggggat aacgcaggaa agaacatgtg agcaaaaggc cagcaaaagg ccaggaaccg 1740 taaaaaggcc gcgttgctgg cgtttttcca taggctccgc cccctgacg agcatcacaa 1800 aaatcgacgc tcaagtcaga ggtggcgaaa cccgacagga ctataaagat accaggcgtt 1860 tecceetgga ageteceteg tgegetetee tgtteegace etgeegetta eeggataeet 1920 gtccgccttt ctcccttcgg gaagcgtggc gctttctcat agctcacgct gtaggtatct 1980 cagtteggtg taggtegtte getecaaget gggetgtgtg caegaacece cegtteagee 2040 cgaccgctgc gccttatccg gtaactatcg tcttgagtcc aacccggtaa gacacgactt 2100 ategecactg geageageca etggtaacag gattageaga gegaggtatg taggeggtge 2160 tacagagttc ttgaagtggt ggcctaacta cggctacact agaaggacag tatttggtat 2220 ctgcqctctg ctgaagccag ttaccttcgg aaaaagagtt ggtagctctt gatccggcaa 2280 acaaaccacc gctggtagcg gtggtttttt tgtttgcaag cagcagatta cgcgcagaaa 2340 aaaaggatct caagaagatc ctttgatctt ttctacgggg tctgacgctc agtggaacga 2400 aaactcacgt taagggattt tggtcatgag attatcaaaa aggatcttca cctagatcct 2460 tttaaattaa aaatgaagtt ttaaatcaat ctaaagtata tatgagtaaa cttggtctga 2520 cagttaccaa tgcttaatca gtgaggcacc tatctcagcg atctgtctat ttcgttcatc 2580 catagttqcc tgactccccg tcgtgtagat aactacgata cgggagggct taccatctgg 2640 ccccagtgct gcaatgatac cgcgagaccc acgctcaccg gctccagatt tatcagcaat 2700 aaaccagcca gccggaaggg ccgagcgcag aagtggtcct gcaactttat ccgcctccat 2760

ccagtctatt aattgttgcc gggaagctag agtaagtagt tcgccagtta atagtttgcg 2820 caacgttgtt gccattgcta caggcatcgt ggtgtcacgc tcgtcgtttg gtatggcttc 2880 attcagctcc ggttcccaac gatcaaggcg agttacatga tcccccatgt tgtgcaaaaa 2940 aggggttage teetteggte etcegategt tgtcagaagt aagttggeeg cagtgttate 3000 actcatggtt atggcagcac tgcataattc tcttactgtc atgccatccg taagatgctt 3060 ttctgtgact ggtgagtact caaccaagtc attctgagaa tagtgtatgc ggcgaccgag 3120 ttgctcttgc ccggcgtcaa tacgggataa taccgcgcca catagcagaa ctttaaaagt 3180 gctcatcatt ggaaaacgtt cttcggggcg aaaactctca aggatcttac cgctgttgag 3240 atccagttcg atgtaaccca ctcgtgcacc caactgatct tcagcatctt ttactttcac 3300 cagcgtttct gggtgagcaa aaacaggaag gcaaaatgcc gcaaaaaagg gaataagggc 3360 gacacggaaa tgttgaatac tcatactctt cctttttcaa tattattgaa gcatttatca 3420 gggttattgt ctcatgagcg gatacatatt tgaatgtatt tagaaaaata aacaaatagg 3480 ggttccgcgc acatttcccc gaaaagtgcc acctgacgtc taagaaacca ttattatcat 3540 3584 gacattaacc tataaaaata ggcgtatcac gaggcccttt cgtc

<210> 36

<211> 4507

<212> DNA

<213> Unknown

<220>

<223> Sequenz stellt eine pflanzliche
 Promotor-Terminator-Expressionskassette in Vektor
 pUC19 dar

tcgcgcgttt cggtgatgac ggtgaaaacc tctgacacat gcagctcccg gagacggtca 60 cagcttgtct gtaagcggat gccgggagca gacaagcccg tcagggcgcg tcagcgggtg 120 ttggcgggtg tcggggctgg cttaactatg cggcatcaga gcagattgta ctgagagtgc 180 accatatgcg gtgtgaaata ccgcacagat gcgtaaggag aaaataccgc atcaggcgcc 240 attcgccatt caggctgcgc aactgttggg aagggcgatc ggtgcgggcc tcttcgctat 300 tacgccagct ggcgaaaggg ggatgtgctg caaggcgatt aagttgggta acgccagggt 360 tttcccagtc acgacgttgt aaaacgacgg ccagtgaatt cggcgcgccg agctcctcga 420 gcaaatttac acattgccac taaacgtcta aacccttgta atttgttttt gttttactat 480 gtgtgttatg tatttgattt gcgataaatt tttatatttg gtactaaatt tataacacct 540 tttatgctaa cgtttgccaa cacttagcaa tttgcaagtt gattaattga ttctaaatta 600 tttttgtctt ctaaatacat atactaatca actggaaatg taaatatttg ctaatatttc 660 tactatagga gaattaaagt gagtgaatat ggtaccacaa ggtttggaga tttaattgtt 720 gcaatgctgc atggatggca tatacaccaa acattcaata attcttgagg ataataatgg 780 taccacacaa gatttgaggt gcatgaacgt cacgtggaca aaaggtttag taatttttca 840 agacaacaat gttaccacac acaagttttg aggtgcatgc atggatgccc tgtggaaagt 900 ttaaaaatat tttggaaatg atttgcatgg aagccatgtg taaaaccatg acatccactt 960 ggaggatgca ataatgaaga aaactacaaa tttacatgca actagttatg catgtagtct 1020 atataatgag gattttgcaa tactttcatt catacacact cactaagttt tacacgatta 1080 taatttette atageeagee caeegeggtg ggeggeegee tgeagtetag aaggeeteet 1140 gctttaatga gatatgcgag acgcctatga tcgcatgata tttgctttca attctgttgt 1200

gcacgttgta aaaaacctga gcatgtgtag ctcagatcct taccgccggt ttcggttcat 1260 totaatqaat atatcacccg ttactatcgt atttttatga ataatattct ccgttcaatt 1320 tactgattgt ccgtcgagca aatttacaca ttgccactaa acgtctaaac ccttgtaatt 1380 tgtttttgtt ttactatgtg tgttatgtat ttgatttgcg ataaattttt atatttggta 1440 ctaaatttat aacacctttt atgctaacgt ttgccaacac ttagcaattt gcaagttgat 1500 taattgattc taaattattt ttgtcttcta aatacatata ctaatcaact ggaaatgtaa 1560 atatttgcta atatttctac tataggagaa ttaaagtgag tgaatatggt accacaaggt 1620 ttggagattt aattgttgca atgctgcatg gatggcatat acaccaaaca ttcaataatt 1680 cttgaggata ataatggtac cacacaagat ttgaggtgca tgaacgtcac gtggacaaaa 1740 ggtttagtaa tttttcaaga caacaatgtt accacacaca agttttgagg tgcatgcatg 1800 qatqccctgt ggaaagttta aaaatatttt ggaaatgatt tgcatggaag ccatgtgtaa 1860 aaccatgaca tccacttgga ggatgcaata atgaagaaaa ctacaaattt acatgcaact 1920 agttatgcat gtagtctata taatgaggat tttgcaatac tttcattcat acacactcac 1980 taagttttac acgattataa tttcttcata gccagcggat ccgatatcgg gcccgctagc 2040 gttaaccctg ctttaatgag atatgcgaga cgcctatgat cgcatgatat ttgctttcaa 2100 ttctgttgtg cacgttgtaa aaaacctgag catgtgtagc tcagatcctt accgccggtt 2160 toggttcatt ctaatgaata tatcacccgt tactatcgta tttttatgaa taatattctc 2220 cgttcaattt actgattgtc cgtcgacgaa ttcgagctcg gcgcgccaag cttggcgtaa 2280 tcatggtcat agctgtttcc tgtgtgaaat tgttatccgc tcacaattcc acacaacata 2340 cgagccggaa gcataaagtg taaagcctgg ggtgcctaat gagtgagcta actcacatta 2400

attgcgttgc gctcactgcc cgctttccag tcgggaaacc tgtcgtgcca gctgcattaa 2460 tgaatcggcc aacgcgcggg gagaggcggt ttgcgtattg ggcgctcttc cgcttcctcg 2520 ctcactgact cgctgcgctc ggtcgttcgg ctgcggcgag cggtatcagc tcactcaaag 2580 gcggtaatac ggttatccac agaatcaggg gataacgcag gaaagaacat gtgagcaaaa 2640 ggccagcaaa aggccaggaa ccgtaaaaag gccgcgttgc tggcgttttt ccataggctc 2700 cgccccctg acgagcatca caaaaatcga cgctcaagtc agaggtggcg aaacccgaca 2760 ggactataaa gataccagge gtttccccct ggaagetece tegtgegete teetgtteeg 2820 accetgeege ttaceggata cetgteegee ttteteeett egggaagegt ggegetttet 2880 catagctcac gctgtaggta tctcagttcg gtgtaggtcg ttcgctccaa gctgggctgt 2940 gtgcacgaac cccccgttca gcccgaccgc tgcgccttat ccggtaacta tcgtcttgag 3000 tccaacccgg taagacacga cttatcgcca ctggcagcag ccactggtaa caggattagc 3060 agagcgaggt atgtaggcgg tgctacagag ttcttgaagt ggtggcctaa ctacggctac 3120 actagaagga cagtatttgg tatctgcgct ctgctgaagc cagttacctt cggaaaaaga 3180 gttggtagct cttgatccgg caaacaaacc accgctggta gcggtggttt ttttgtttgc 3240 aagcagcaga ttacgcgcag aaaaaaagga tctcaagaag atcctttgat cttttctacg 3300 gggtctgacg ctcagtggaa cgaaaactca cgttaaggga ttttggtcat gagattatca 3360 aaaaggatct tcacctagat ccttttaaat taaaaatgaa gttttaaatc aatctaaagt 3420 atatatgagt aaacttggtc tgacagttac caatgcttaa tcagtgaggc acctatctca 3480 gcgatctgtc tatttcgttc atccatagtt gcctgactcc ccgtcgtgta gataactacg 3540 atacgggagg gcttaccatc tggccccagt gctgcaatga taccgcgaga cccacgctca 3600 ccggctccag atttatcagc aataaaccag ccagccggaa gggccgagcg cagaagtggt 3660 cctgcaactt tatccgcctc catccagtct attaattgtt gccgggaagc tagagtaagt 3720 agttcgccag ttaatagttt gcgcaacgtt gttgccattg ctacaggcat cgtggtgtca 3780 cgctcgtcgt ttggtatggc ttcattcagc tccggttccc aacgatcaag gcgagttaca 3840 tgatccccca tgttgtgcaa aaaagcggtt agctccttcg gtcctccgat cgttgtcaga 3900 agtaagttgg ccgcagtgtt atcactcatg gttatggcag cactgcataa ttctcttact 3960 gtcatgccat ccgtaagatg cttttctgtg actggtgagt actcaaccaa gtcattctga 4020 gaatagtgta tgcggcgacc gagttgctct tgcccggcgt caatacggga taataccgcg 4080 ccacatagca gaactttaaa agtgctcatc attggaaaac gttcttcggg gcgaaaactc 4140 tcaaqqatct taccqctgtt gagatccagt tcgatgtaac ccactcgtgc acccaactga 4200 tcttcagcat cttttacttt caccagcgtt tctgggtgag caaaaacagg aaggcaaaat 4260 gccgcaaaaa agggaataag ggcgacacgg aaatgttgaa tactcatact cttccttttt 4320 caatattatt gaagcattta tcagggttat tgtctcatga gcggatacat atttgaatgt 4380 atttagaaaa ataaacaaat aggggttccg cgcacatttc cccgaaaagt gccacctgac 4440 gtctaagaaa ccattattat catgacatta acctataaaa ataggcgtat cacgaggccc 4500 4507 tttcgtc

<210> 37

<211> 5410

<212> DNA

<213> Unknown

<220>

<223> Sequenz stellt eine pflanzliche

Promotor-Terminator-Expressionskassette in Vektor pUC19 dar

<400> 37 ttttggaaat gatttgcatg gaagccatgt gtaaaaccat gacatccact tggaggatgc 60 aataatgaag aaaactacaa atttacatgc aactagttat gcatgtagtc tatataatga 120 ggattttgca atactttcat tcatacacac tcactaagtt ttacacgatt ataatttctt 180 catagccagc ggatccgata tcgggcccgc tagcgttaac cctgctttaa tgagatatgc 240 gagacgccta tgatcgcatg atatttgctt tcaattctgt tgtgcacgtt gtaaaaaacc 300 tgagcatgtg tagctcagat ccttaccgcc ggtttcggtt cattctaatg aatatatcac 360 ccgttactat cgtattttta tgaataatat tctccgttca atttactgat tgtccgtcga 420 gcaaatttac acattgccac taaacgtcta aacccttgta atttgttttt gttttactat 480 gtgtgttatg tatttgattt gcgataaatt tttatatttg gtactaaatt tataacacct 540 tttatgctaa cgtttgccaa cacttagcaa tttgcaagtt gattaattga ttctaaatta 600 tttttgtctt ctaaatacat atactaatca actggaaatg taaatatttg ctaatatttc 660 tactatagga gaattaaagt gagtgaatat ggtaccacaa ggtttggaga tttaattgtt 720 qcaatqctqc atggatqqca tatacaccaa acattcaata attcttqagg ataataatgg 780 taccacacaa gatttgaggt gcatgaacgt cacgtggaca aaaggtttag taatttttca 840 agacaacaat gttaccacac acaagttttg aggtgcatgc atggatgccc tgtggaaagt 900 ttaaaaatat tttggaaatg atttgcatgg aagccatgtg taaaaccatg acatccactt 960 ggaggatgca ataatgaaga aaactacaaa tttacatgca actagttatg catgtagtct 1020 atataatgag gattttgcaa tactttcatt catacacact cactaagttt tacacgatta 1080

taatttette atageeagea gatetgeegg categateee gggeeatgge etgetttaat 1140 gagatatgcg agacgcctat gatcgcatga tatttgcttt caattctgtt gtgcacgttg 1200 taaaaaacct gagcatgtgt agctcagatc cttaccgccg gtttcggttc attctaatga 1260 atatatcacc cgttactatc gtatttttat gaataatatt ctccgttcaa tttactgatt 1320 gtccgtcgac gagctcggcg cgccaagctt ggcgtaatca tggtcatagc tgtttcctgt 1380 gtgaaattgt tatccgctca caattccaca caacatacga gccggaagca taaagtgtaa 1440 agcctggggt gcctaatgag tgagctaact cacattaatt gcgttgcgct cactgcccgc 1500 tttccagtcg ggaaacctgt cgtgccagct gcattaatga atcggccaac gcgcggggag 1560 aggeggtttg cgtattgggc getetteege tteetegete actgaetege tgegeteggt 1620 cgttcggctg cggcgagcgg tatcagctca ctcaaaggcg gtaatacggt tatccacaga 1680 atcaggggat aacgcaggaa agaacatgtg agcaaaaggc cagcaaaagg ccaggaaccg 1740 taaaaaggcc gcgttgctgg cgtttttcca taggctccgc cccctgacg agcatcacaa 1800 aaatcgacgc tcaagtcaga ggtggcgaaa cccgacagga ctataaagat accaggcgtt 1860 teccetgga ageteceteg tgegetetee tgttecgace etgeegetta eeggatacet 1920 gtccgccttt ctcccttcgg gaagcgtggc gctttctcat agctcacgct gtaggtatct 1980 cagttcggtg taggtcgttc gctccaagct gggctgtgtg cacgaacccc ccgttcagcc 2040 cgaccgctgc gccttatccg gtaactatcg tcttgagtcc aacccggtaa gacacgactt 2100 atcgccactg gcagcagcca ctggtaacag gattagcaga gcgaggtatg taggcggtgc 2160 tacagagttc ttgaagtggt ggcctaacta cggctacact agaaggacag tatttggtat 2220 ctgcgctctg ctgaagccag ttaccttcgg aaaaagagtt ggtagctctt gatccggcaa 2280

acaaaccacc gctggtagcg gtggtttttt tgtttgcaag cagcagatta cgcgcagaaa 2340 aaaaggatct caagaagatc ctttgatctt ttctacgggg tctgacgctc agtggaacga 2400 aaactcacgt taagggattt tggtcatgag attatcaaaa aggatcttca cctagatcct 2460 tttaaattaa aaatgaagtt ttaaatcaat ctaaagtata tatgagtaaa cttggtctga 2520 cagttaccaa tgcttaatca gtgaggcacc tatctcagcg atctgtctat ttcgttcatc 2580 catagttgcc tgactccccg tcgtgtagat aactacgata cgggagggct taccatctgg 2640 ccccagtgct gcaatgatac cgcgagaccc acgctcaccg gctccagatt tatcagcaat 2700 aaaccagcca geeggaaggg eegagegeag aagtggteet geaactttat eegeeteeat 2760 ccagtctatt aattgttgcc gggaagctag agtaagtagt tcgccagtta atagtttgcg 2820 caacgttgtt gccattgcta caggcatcgt ggtgtcacgc tcgtcgtttg gtatggcttc 2880 attcaqctcc ggttcccaac gatcaaggcg agttacatga tcccccatgt tgtgcaaaaa 2940 agggttage teetteggte etcegategt tgteagaagt aagttggeeg cagtgttate 3000 actcatggtt atggcagcac tgcataattc tcttactgtc atgccatccg taagatgctt 3060 ttctgtgact ggtgagtact caaccaagtc attctgagaa tagtgtatgc ggcgaccgag 3120 ttgctcttgc ccggcgtcaa tacgggataa taccgcgcca catagcagaa ctttaaaagt 3180 gctcatcatt ggaaaacgtt cttcggggcg aaaactctca aggatcttac cgctgttgag 3240 atccagttcg atgtaaccca ctcgtgcacc caactgatct tcagcatctt ttactttcac 3300 cagcgtttct gggtgagcaa aaacaggaag gcaaaatgcc gcaaaaaagg gaataagggc 3360 gacacggaaa tgttgaatac tcatactctt cctttttcaa tattattgaa gcatttatca 3420 gggttattgt ctcatgagcg gatacatatt tgaatgtatt tagaaaaata aacaaatagg 3480

ggttccgcgc acatttcccc gaaaagtgcc acctgacgtc taagaaacca ttattatcat 3540 qacattaacc tataaaaata ggcgtatcac gaggcccttt cgtctcgcgc gtttcggtga 3600 tgacqqtgaa aacctctgac acatgcagct cccggagacg gtcacagctt gtctgtaagc 3660 ggatgccggg agcagacaag cccgtcaggg cgcgtcagcg ggtgttggcg ggtgtcgggg 3720 ctggcttaac tatgcggcat cagagcagat tgtactgaga gtgcaccata tgcggtgtga 3780 aataccgcac agatgcgtaa ggagaaaata ccgcatcagg cgccattcgc cattcaggct 3840 gcgcaactgt tgggaagggc gatcggtgcg ggcctcttcg ctattacgcc agctggcgaa 3900 agggggatgt gctgcaaggc gattaagttg ggtaacgcca gggttttccc agtcacgacg 3960 ttgtaaaacg acggccagtg aattcggcgc gccgagctcc tcgagcaaat ttacacattg 4020 ccactaaacg tctaaaccct tgtaatttgt ttttgtttta ctatgtgtgt tatgtatttg 4080 atttgcgata aatttttata tttggtacta aatttataac accttttatg ctaacgtttg 4140 ccaacactta gcaatttgca agttgattaa ttgattctaa attatttttg tcttctaaat 4200 acatatacta atcaactgga aatgtaaata tttgctaata tttctactat aggagaatta 4260 aagtgagtga atatggtacc acaaggtttg gagatttaat tgttgcaatg ctgcatggat 4320 ggcatataca ccaaacattc aataattctt gaggataata atggtaccac acaagatttg 4380 aggtgcatga acgtcacgtg gacaaaaggt ttagtaattt ttcaagacaa caatgttacc 4440 acacacaagt tttgaggtgc atgcatggat gccctgtgga aagtttaaaa atattttgga 4500 aatgatttgc atggaagcca tgtgtaaaac catgacatcc acttggagga tgcaataatg 4560 aagaaaacta caaatttaca tgcaactagt tatgcatgta gtctatataa tgaggatttt 4620 gcaatacttt cattcataca cactcactaa gttttacacg attataattt cttcatagcc 4680

agcccaccgc ggtgggcggc cgcctgcagt ctagaaggcc tcctgcttta atgagatatg 4740 cqaqacgcct atgatcgcat gatatttgct ttcaattctg ttgtgcacgt tgtaaaaaac 4800 ctgagcatgt gtagctcaga tccttaccgc cggtttcggt tcattctaat gaatatatca 4860 cccgttacta tcgtattttt atgaataata ttctccgttc aatttactga ttgtccgtcg 4920 agcaaattta cacattgcca ctaaacgtct aaacccttgt aatttgtttt tgttttacta 4980 tgtgtgttat gtatttgatt tgcgataaat ttttatattt ggtactaaat ttataacacc 5040 ttttatgcta acgtttgcca acacttagca atttgcaagt tgattaattg attctaaatt 5100 atttttgtct tctaaataca tatactaatc aactggaaat gtaaatattt gctaatattt 5160 ctactatagg agaattaaag tgagtgaata tggtaccaca aggtttggag atttaattgt 5220 tgcaatgctg catggatggc atatacacca aacattcaat aattcttgag gataataatg 5280 gtaccacaca agatttgagg tgcatgaacg tcacgtggac aaaaggttta gtaatttttc 5340 aagacaacaa tgttaccaca cacaagtttt gaggtgcatg catggatgcc ctgtggaaag 5400 5410 tttaaaaata

<210> 38

<211> 12093

<212> DNA

<213> Unknown

<220>

<223> pflanzlicher Expressionsvektor mit einer
Promotor-Terminator-Expressionskassette

<400> 38

gatctggcgc cggccagcga gacgagcaag attggccgcc gcccgaaacg atccgacagc 60 gcgcccagca caggtgcgca ggcaaattgc accaacgcat acagcgccag cagaatgcca 120

tagtgggcgg tgacgtcgtt cgagtgaacc agatcgcgca ggaggcccgg cagcaccggc 180 ataatcaggc cgatgccgac agcgtcgagc gcgacagtgc tcagaattac gatcaggggt 240 atgttgggtt tcacgtctgg cctccggacc agcctccgct ggtccgattg aacgcgcgga 300 ttctttatca ctgataagtt ggtggacata ttatgtttat cagtgataaa gtgtcaagca 360 tgacaaagtt gcagccgaat acagtgatcc gtgccgccct ggacctgttg aacgaggtcg 420 gcgtagacgg tctgacgaca cgcaaactgg cggaacggtt gggggttcag cagccggcgc 480 tttactggca cttcaggaac aagcgggcgc tgctcgacgc actggccgaa gccatgctgg 540 eggagaatea taegeatteg gtgeegagag eegaegaega etggegetea tttetgateg 600 ggaatgcccg cagettcagg caggcgctgc tegectaceg egatggegeg egeatecatg 660 ccggcacgcg accgggcgca ccgcagatgg aaacggccga cgcgcagctt cgcttcctct 720 gcgaggcggg tttttcggcc ggggacgccg tcaatgcgct gatgacaatc agctacttca 780 ctgttggggc cgtgcttgag gagcaggccg gcgacagcga tgccggcgag cgcggcggca 840 ccgttgaaca ggctccgctc tcgccgctgt tgcgggccgc gatagacgcc ttcgacgaag 900 ccggtccgga cgcagcgttc gagcagggac tcgcggtgat tgtcgatgga ttggcgaaaa 960 ggaggctcgt tgtcaggaac gttgaaggac cgagaaaggg tgacgattga tcaggaccgc 1020 tgccggagcg caacccactc actacagcag agccatgtag acaacatccc ctccccttt 1080 ccaccgcgtc agacgcccgt agcagcccgc tacgggcttt ttcatgccct gccctagcgt 1140 ccaagectea eggeeget eggeetetet ggeggeette tggegetett eegetteete 1200 gctcactgac tcgctgcgct cggtcgttcg gctgcggcga gcggtatcag ctcactcaaa 1260 ggcggtaata cggttatcca cagaatcagg ggataacgca ggaaagaaca tgtgagcaaa 1320

aggccagcaa aaggccagga accgtaaaaa ggccgcgttg ctggcgtttt tccataggct 1380 ccgccccct gacgagcatc acaaaaatcg acgctcaagt cagaggtggc gaaacccgac 1440 aggactataa agataccagg cgtttccccc tggaagctcc ctcgtgcgct ctcctgttcc 1500 gaccctgccg cttaccggat acctgtccgc ctttctccct tcgggaagcg tggcgctttt 1560 ccgctgcata accctgcttc ggggtcatta tagcgatttt ttcggtatat ccatcctttt 1620 tcgcacgata tacaggattt tgccaaaggg ttcgtgtaga ctttccttgg tgtatccaac 1680 ggcgtcagcc gggcaggata ggtgaagtag gcccacccgc gagcgggtgt tccttcttca 1740 ctgtccctta ttcgcacctg gcggtgctca acgggaatcc tgctctgcga ggctggccgg 1800 ctaccgccgg cgtaacagat gagggcaagc ggatggctga tgaaaccaag ccaaccagga 1860 agggcagccc acctatcaag gtgtactgcc ttccagacga acgaagagcg attgaggaaa 1920 aggeggegge ggeeggeatg ageetgtegg cetacetget ggeegtegge cagggetaca 1980 aaatcacggg cgtcgtggac tatgagcacg tccgcgagct ggcccgcatc aatggcgacc 2040 tgggccgcct gggcggcctg ctgaaactct ggctcaccga cgacccgcgc acggcgcggt 2100 tcggtgatgc cacgatcctc gccctgctgg cgaagatcga agagaagcag gacgagcttg 2160 gcaaggtcat gatgggcgtg gtccgcccga gggcagagcc atgacttttt tagccgctaa 2220 aacggccggg gggtgcgcgt gattgccaag cacgtcccca tgcgctccat caagaagagc 2280 gacttcgcgg agctggtgaa gtacatcacc gacgagcaag gcaagaccga gcgcctttgc 2340 gacgctcacc gggctggttg ccctcgccgc tgggctggcg gccgtctatg gccctgcaaa 2400 cgcgccagaa acgccgtcga agccgtgtgc gagacaccgc ggccgccggc gttgtggata 2460 cctcgcggaa aacttggccc tcactgacag atgagggcg gacgttgaca cttgaggggc 2520

cgactcaccc ggcgcggcgt tgacagatga ggggcaggct cgatttcggc cggcgacgtg 2580 gagctggcca gcctcgcaaa tcggcgaaaa cgcctgattt tacgcgagtt tcccacagat 2640 gatgtggaca agcctgggga taagtgccct gcggtattga cacttgaggg gcgcgactac 2700 tgacagatga ggggcgcgat ccttgacact tgaggggcag agtgctgaca gatgaggggc 2760 gcacctattg acatttgagg ggctgtccac aggcagaaaa tccagcattt gcaagggttt 2820 ccgcccgttt ttcggccacc gctaacctgt cttttaacct gcttttaaac caatatttat 2880 aaaccttgtt tttaaccagg gctgcgccct gtgcgcgtga ccgcgcacgc cgaagggggg 2940 tgcccccct tctcgaaccc tcccggcccg ctaacgcggg cctcccatcc ccccaggggc 3000 tgcgcccctc ggccgcgaac ggcctcaccc caaaaatggc agcgctggca gtccttgcca 3060 ttgccgggat cggggcagta acgggatggg cgatcagccc gagcgcgacg cccggaagca 3120 ttgacgtgcc gcaggtgctg gcatcgacat tcagcgacca ggtgccgggc agtgagggcg 3180 geggeetggg tggeggeetg ceetteactt eggeegtegg ggeatteaeg gaetteatgg 3240 cggggccggc aatttttacc ttgggcattc ttggcatagt ggtcgcgggt gccgtgctcg 3300 tgttcggggg tgcgataaac ccagcgaacc atttgaggtg ataggtaaga ttataccgag 3360 gtatgaaaac gagaattgga cctttacaga attactctat gaagcgccat atttaaaaag 3420 ctaccaagac gaagaggatg aagaggatga ggaggcagat tgccttgaat atattgacaa 3480 tactgataag ataatatatc ttttatatag aagatatcgc cgtatgtaag gatttcaggg 3540 ggcaaggcat aggcagcgcg cttatcaata tatctataga atgggcaaag cataaaaact 3600 tgcatggact aatgcttgaa acccaggaca ataaccttat agcttgtaaa ttctatcata 3660 attgggtaat gactccaact tattgatagt gttttatgtt cagataatgc ccgatgactt 3720

tgtcatgcag ctccaccgat tttgagaacg acagcgactt ccgtcccagc cgtgccaggt 3780 gctgcctcag attcaggtta tgccgctcaa ttcgctgcgt atatcgcttg ctgattacgt 3840 gcagctttcc cttcaggcgg gattcataca gcggccagcc atccgtcatc catatcacca 3900 cgtcaaaggg tgacagcagg ctcataagac gccccagcgt cgccatagtg cgttcaccga 3960 atacgtgcgc aacaaccgtc ttccggagac tgtcatacgc gtaaaacagc cagcgctggc 4020 gcgatttagc cccgacatag ccccactgtt cgtccatttc cgcgcagacg atgacgtcac 4080 tgcccggctg tatgcgcgag gttaccgact gcggcctgag ttttttaagt gacgtaaaat 4140 cgtgttgagg ccaacgccca taatgcgggc tgttgcccgg catccaacgc cattcatggc 4200 catatcaatg attttctggt gcgtaccggg ttgagaagcg gtgtaagtga actgcagttg 4260 ccatgtttta cggcagtgag agcagagata gcgctgatgt ccggcggtgc ttttgccgtt 4320 acgcaccacc ccgtcagtag ctgaacagga gggacagctg atagacacag aagccactgg 4380 agcacctcaa aaacaccatc atacactaaa tcagtaagtt ggcagcatca cccataattg 4440 tggtttcaaa atcggctccg tcgatactat gttatacgcc aactttgaaa acaactttga 4500 aaaagctgtt ttctggtatt taaggtttta gaatgcaagg aacagtgaat tggagttcgt 4560 cttgttataa ttagcttctt ggggtatctt taaatactgt agaaaagagg aaggaaataa 4620 taaatggcta aaatgagaat atcaccggaa ttgaaaaaac tgatcgaaaa ataccgctgc 4680 gtaaaagata cggaaggaat gtctcctgct aaggtatata agctggtggg agaaaatgaa 4740 aacctatatt taaaaatgac ggacagccgg tataaaggga ccacctatga tgtggaacgg 4800 gaaaaggaca tgatgctatg gctggaagga aagctgcctg ttccaaaggt cctgcacttt 4860 gaacggcatg atggctggag caatctgctc atgagtgagg ccgatggcgt cctttgctcg 4920

gaagagtatg aagatgaaca aagccctgaa aagattatcg agctgtatgc ggagtgcatc 4980 aggetettte actecatega catateggat tgteeetata egaatagett agaeageege 5040 ttaqccgaat tggattactt actgaataac gatctggccg atgtggattg cgaaaactgg 5100 gaagaagaca ctccatttaa agatccgcgc gagctgtatg attttttaaa gacggaaaag 5160 cccgaagagg aacttgtctt ttcccacggc gacctgggag acagcaacat ctttgtgaaa 5220 gatggcaaag taagtggctt tattgatctt gggagaagcg gcagggcgga caagtggtat 5280 gacattgcct tctgcgtccg gtcgatcagg gaggatatcg gggaagaaca gtatgtcgag 5340 ctggatgaat tgttttagta cctagatgtg gcgcaacgat gccggcgaca agcaggagcg 5460 caccgacttc ttccgcatca agtgttttgg ctctcaggcc gaggcccacg gcaagtattt 5520 gggcaagggg tcgctggtat tcgtgcaggg caagattcgg aataccaagt acgagaagga 5580 cggccagacg gtctacggga ccgacttcat tgccgataag gtggattatc tggacaccaa 5640 ggcaccaggc gggtcaaatc aggaataagg gcacattgcc ccggcgtgag tcggggcaat 5700 cccgcaagga gggtgaatga atcggacgtt tgaccggaag gcatacaggc aagaactgat 5760 cgacgcgggg ttttccgccg aggatgccga aaccatcgca agccgcaccg tcatgcgtgc 5820 geocegegaa acettecagt cegteggete gatggteeag caagetaegg ceaagatega 5880 gegegacage gtgeaactgg cteecectge cetgeeegeg ceateggeeg eegtggageg 5940 ttegegtegt etegaacagg aggeggeagg tttggegaag tegatgaeca tegacaegeg 6000 aggaactatg acgaccaaga agcgaaaaac cgccggcgag gacctggcaa aacaggtcag 6060 cgaggccaag caggccgcgt tgctgaaaca cacgaagcag cagatcaagg aaatgcagct 6120

ttccttgttc gatattgcgc cgtggccgga cacgatgcga gcgatgccaa acgacacggc 6180 ccgctctgcc ctgttcacca cgcgcaacaa gaaaatcccg cgcgaggcgc tgcaaaacaa 6240 ggtcattttc cacgtcaaca aggacgtgaa gatcacctac accggcgtcg agctgcgggc 6300 cgacgatgac gaactggtgt ggcagcaggt gttggagtac gcgaagcgca cccctatcgg 6360 cgagccgatc accttcacgt tctacgagct ttgccaggac ctgggctggt cgatcaatgg 6420 ccggtattac acgaaggccg aggaatgcct gtcgcgccta caggcgacgg cgatgggctt 6480 cacgtccgac cgcgttgggc acctggaatc ggtgtcgctg ctgcaccgct tccgcgtcct 6540 ggaccgtggc aagaaaacgt cccgttgcca ggtcctgatc gacgaggaaa tcgtcgtgct 6600 gtttgctggc gaccactaca cgaaattcat atgggagaag taccgcaagc tgtcgccgac 6660 ggcccgacgg atgttcgact atttcagctc gcaccgggag ccgtacccgc tcaagctgga 6720 aaccttccgc ctcatgtgcg gatcggattc cacccgcgtg aagaagtggc gcgagcaggt 6780 cggcgaagcc tgcgaagagt tgcgaggcag cggcctggtg gaacacgcct gggtcaatga 6840 tgacctggtg cattgcaaac gctagggcct tgtggggtca gttccggctg ggggttcagc 6900 agccagcgct ttactggcat ttcaggaaca agcgggcact gctcgacgca cttgcttcgc 6960 tcagtatcgc tcgggacgca cggcgcgctc tacgaactgc cgataaacag aggattaaaa 7020 ttgacaattg tgattaaggc tcagattcga cggcttggag cggccgacgt gcaggatttc 7080 cgcgagatcc gattgtcggc cctgaagaaa gctccagaga tgttcgggtc cgtttacgag 7140 cacgaggaga aaaagcccat ggaggcgttc gctgaacggt tgcgagatgc cgtggcattc 7200 ggcgcctaca tcgacggcga gatcattggg ctgtcggtct tcaaacagga ggacggcccc 7260 aaggacgctc acaaggcgca tctgtccggc gttttcgtgg agcccgaaca gcgaggccga 7320

ggggtcgccg gtatgctgct gcgggcgttg ccggcgggtt tattgctcgt gatgatcgtc 7380 cgacagattc caacgggaat ctggtggatg cgcatcttca tcctcggcgc acttaatatt 7440 togotattot ggagottgtt gtttatttog gtotacogco tgcogggogg ggtogoggog 7500 acggtaggcg ctgtgcagcc gctgatggtc gtgttcatct ctgccgctct gctaggtagc 7560 ccgatacgat tgatggcggt cctgggggct atttgcggaa ctgcgggcgt ggcgctgttg 7620 gtgttgacac caaacgcagc gctagatcct gtcggcgtcg cagcgggcct ggcgggggcg 7680 gtttccatgg cgttcggaac cgtgctgacc cgcaagtggc aacctcccgt gcctctgctc 7740 acctttaccg cctggcaact ggcggccgga ggacttctgc tcgttccagt agctttagtg 7800 tttgatccgc caatcccgat gcctacagga accaatgttc tcggcctggc gtggctcggc 7860 ctgatcggag cgggtttaac ctacttcctt tggttccggg ggatctcgcg actcgaacct 7920 acagttgttt ccttactggg ctttctcagc cccagatctg gggtcgatca gccggggatg 7980 catcaggccg acagtcggaa cttcgggtcc ccgacctgta ccattcggtg agcaatggat 8040 aggggagttg atatcgtcaa cgttcacttc taaagaaata gcgccactca gcttcctcag 8100 cggctttatc cagcgatttc ctattatgtc ggcatagttc tcaagatcga cagcctgtca 8160 cggttaagcg agaaatgaat aagaaggctg ataattcgga tctctgcgag ggagatgata 8220 tttgatcaca ggcagcaacg ctctgtcatc gttacaatca acatgctacc ctccgcgaga 8280 tcatccgtgt ttcaaacccg gcagcttagt tgccgttctt ccgaatagca tcggtaacat 8340 gagcaaagtc tgccgcctta caacggctct cccgctgacg ccgtcccgga ctgatgggct 8400 gcctgtatcg agtggtgatt ttgtgccgag ctgccggtcg gggagctgtt ggctggctgg 8460 tggcaggata tattgtggtg taaacaaatt gacgcttaga caacttaata acacattgcg 8520

gacgttttta atgtactggg gtggtttttc ttttcaccag tgagacgggc aacagctgat 8580 tgcccttcac cgcctggccc tgagagagtt gcagcaagcg gtccacgctg gtttgcccca 8640 gcaggcgaaa atcctgtttg atggtggttc cgaaatcggc aaaatccctt ataaatcaaa 8700 agaatagccc gagatagggt tgagtgttgt tccagtttgg aacaagagtc cactattaaa 8760 gaacgtggac tccaacgtca aagggcgaaa aaccgtctat cagggcgatg gcccactacg 8820 tgaaccatca cccaaatcaa gttttttggg gtcgaggtgc cgtaaagcac taaatcggaa 8880 ccctaaaggg agccccgat ttagagcttg acggggaaag ccggcgaacg tggcgagaaa 8940 ggaagggaag aaagcgaaag gagcgggcgc cattcaggct gcgcaactgt tgggaagggc 9000 gateggtgeg ggeetetteg etattacgee agetggegaa agggggatgt getgeaagge 9060 gattaagttg ggtaacgcca gggttttccc agtcacgacg ttgtaaaacg acggccagtg 9120 aattaattcc catcttgaaa gaaatatagt ttaaatattt attgataaaa taacaagtca 9180 ggtattatag tccaagcaaa aacataaatt tattgatgca agtttaaatt cagaaatatt 9240 tcaataactg attatatcag ctggtacatt gccgtagatg aaagactgag tgcgatatta 9300 tgtgtaatac ataaattgat gatatagcta gcttagctca tcggggggatc cgtcgaagct 9360 agcttgggtc ccgctcagaa gaactcgtca agaaggcgat agaaggcgat gcgctgcgaa 9420 tcgggagcgg cgataccgta aagcacgagg aagcggtcag cccattcgcc gccaagctct 9480 tcagcaatat cacgggtagc caacgctatg tcctgatagc ggtccgccac acccagccgg 9540 ccacagtcga tgaatccaga aaagcggcca ttttccacca tgatattcgg caagcaggca 9600 tegecatggg teaegacgag atectegeeg tegggeatge gegeettgag cetggegaae 9660 agtteggetg gegegageee etgatgetet tegtecagat cateetgate gacaagaceg 9720

gcttccatcc gagtacgtgc tcgctcgatg cgatgtttcg cttggtggtc gaatgggcag 9780 gtagccggat caagcgtatg cagccgccgc attgcatcag ccatgatgga tactttctcg 9840 gcaggagcaa ggtgagatga caggagatcc tgccccggca cttcgcccaa tagcagccag 9900 tcccttcccg cttcagtgac aacgtcgagc acagctgcgc aaggaacgcc cgtcgtggcc 9960 agccacgata geogegetge etegteetge agtteattea gggcacegga caggteggte 10020 ttgacaaaaa gaaccgggcg cccctgcgct gacagccgga acacggcggc atcagagcag 10080 ccgattgtct gttgtgccca gtcatagccg aatagcctct ccacccaagc ggccggagaa 10140 cctgcgtgca atccatcttg ttcaatccaa gctcccatgg gccctcgact agagtcgaga 10200 tctggattga gagtgaatat gagactctaa ttggataccg aggggaattt atggaacgtc 10260 agtggagcat ttttgacaag aaatatttgc tagctgatag tgaccttagg cgacttttga 10320 acgcgcaata atggtttctg acgtatgtgc ttagctcatt aaactccaga aacccgcggc 10380 tgagtggctc cttcaacgtt gcggttctgt cagttccaaa cgtaaaacgg cttgtcccgc 10440 gtcatcggcg ggggtcataa cgtgactccc ttaattctcc gctcatgatc ttgatcccct 10500 gegecateag atecttggeg geaagaaage catecagttt aetttgeagg getteecaae 10560 cttaccagag ggcgccccag ctggcaattc cggttcgctt gctgtccata aaaccgccca 10620 gtctagctat cgccatgtaa gcccactgca agctacctgc tttctctttg cgcttgcgtt 10680 ttcccttgtc cagatagccc agtagctgac attcatccgg ggtcagcacc gtttctgcgg 10740 actggctttc tacgtgttcc gcttccttta gcagcccttg cgccctgagt gcttgcggca 10800 gcgtgaagct tgcatgcctg caggtcgacg gcgcgccgag ctcctcgagc aaatttacac 10860 attgccacta aacgtctaaa cccttgtaat ttgtttttgt tttactatgt gtgttatgta 10920

tttgatttgc gataaatttt tatatttggt actaaattta taacaccttt tatgctaacg 10980 tttgccaaca cttagcaatt tgcaagttga ttaattgatt ctaaattatt tttgtcttct 11040 aaatacatat actaatcaac tggaaatgta aatatttgct aatatttcta ctataggaga 11100 attaaagtga gtgaatatgg taccacaagg tttggagatt taattgttgc aatgctgcat 11160 ggatggcata tacaccaaac attcaataat tcttgaggat aataatggta ccacacaaga 11220 tttgaggtgc atgaacgtca cgtggacaaa aggtttagta atttttcaag acaacaatgt 11280 taccacaca aagttttgag gtgcatgcat ggatgccctg tggaaagttt aaaaatattt 11340 tggaaatgat ttgcatggaa gccatgtgta aaaccatgac atccacttgg aggatgcaat 11400 aatgaagaaa actacaaatt tacatgcaac tagttatgca tgtagtctat ataatgagga 11460 ttttgcaata ctttcattca tacacactca ctaagtttta cacgattata atttcttcat 11520 agccagccca ccgcggtggg cggccgcctg cagtctagaa ggcctcctgc tttaatgaga 11580 tatgcgagac gcctatgatc gcatgatatt tgctttcaat tctgttgtgc acgttgtaaa 11640 aaacctgagc atgtgtagct cagatcctta ccgccggttt cggttcattc taatgaatat 11700 atcacccgtt actatcgtat ttttatgaat aatattctcc gttcaattta ctgattgtcc 11760 gtcgacgaat tcgagctcgg cgcgcctcta gaggatcgat gaattcagat cggctgagtg 11820 gctccttcaa cgttgcggtt ctgtcagttc caaacgtaaa acggcttgtc ccgcgtcatc 11880 ggcgggggtc ataacgtgac tcccttaatt ctccgctcat gatcagattg tcgtttcccg 11940 ccttcagttt aaactatcag tgtttgacag gatatattgg cgggtaaacc taagagaaaa 12000 gagcgtttat tagaataatc ggatatttaa aagggcgtga aaaggtttat ccttcgtcca 12060 tttgtatgtg catgccaacc acagggttcc cca 12093

<210> 39

<211> 12085

<212> DNA

<213> Unknown

<220>

<223> pflanzlicher Expressionsvektor mit einer Promotor-Terminator-Expressionskassette

<400> 39 gatctggcgc cggccagcga gacgagcaag attggccgcc gcccgaaacg atccgacagc 60 gcgcccagca caggtgcgca ggcaaattgc accaacgcat acagcgccag cagaatgcca 120 tagtgggcgg tgacgtcgtt cgagtgaacc agatcgcgca ggaggcccgg cagcaccggc 180 ataatcaggc cgatgccgac agcgtcgagc gcgacagtgc tcagaattac gatcaggggt 240 atgttgggtt teacgtetgg ceteeggace ageeteeget ggteegattg aaegegegga 300 ttctttatca ctgataagtt ggtggacata ttatgtttat cagtgataaa gtgtcaagca 360 tgacaaagtt gcagccgaat acagtgatcc gtgccgccct ggacctgttg aacgaggtcg 420 gcgtagacgg tctgacgaca cgcaaactgg cggaacggtt gggggttcag cagccggcgc 480 tttactggca cttcaggaac aagcgggcgc tgctcgacgc actggccgaa gccatgctgg 540 eggagaatea tacgeatteg gtgeegagag eegaegaega etggegetea tttetgateg 600 ggaatgeecg cagetteagg caggegetge tegectaceg egatggegeg egeateeatg 660 ccggcacgcg accgggcgca ccgcagatgg aaacggccga cgcgcagctt cgcttcctct 720 gcgaggcggg tttttcggcc ggggacgccg tcaatgcgct gatgacaatc agctacttca 780 ctgttggggc cgtgcttgag gagcaggccg gcgacagcga tgccggcgag cgcggcggca 840

ccgttgaaca ggctccgctc tcgccgctgt tgcgggccgc gatagacgcc ttcgacgaag 900 ccggtccgga cgcagcgttc gagcagggac tcgcggtgat tgtcgatgga ttggcgaaaa 960 ggaggetegt tgteaggaae gttgaaggae egagaaaggg tgaegattga teaggaeege 1020 tgccggagcg caacccactc actacagcag agccatgtag acaacatccc ctccccttt 1080 ccaccgcgtc agacgcccgt agcagcccgc tacgggcttt ttcatgccct gccctagcgt 1140 ccaagectea eggeeget eggeetetet ggeggeette tggegetett eegetteete 1200 gctcactgac tcgctgcgct cggtcgttcg gctgcggcga gcggtatcag ctcactcaaa 1260 ggcggtaata cggttatcca cagaatcagg ggataacgca ggaaagaaca tgtgagcaaa 1320 aggccagcaa aaggccagga accgtaaaaa ggccgcgttg ctggcgtttt tccataggct 1380 ccgccccct gacgagcatc acaaaaatcg acgctcaagt cagaggtggc gaaacccgac 1440 aggactataa agataccagg cgtttccccc tggaagctcc ctcgtgcgct ctcctgttcc 1500 gaccetgeeg ettaceggat acetgteege ettteteeet tegggaageg tggegetttt 1560 ccgctgcata accctgcttc ggggtcatta tagcgatttt ttcggtatat ccatcctttt 1620 tcgcacgata tacaggattt tgccaaaggg ttcgtgtaga ctttccttgg tgtatccaac 1680 ggcgtcagcc gggcaggata ggtgaagtag gcccacccgc gagcgggtgt tccttcttca 1740 ctgtccctta ttcgcacctg gcggtgctca acgggaatcc tgctctgcga ggctggccgg 1800 ctaccgccgg cgtaacagat gagggcaagc ggatggctga tgaaaccaag ccaaccagga 1860 agggcagccc acctatcaag gtgtactgcc ttccagacga acgaagagcg attgaggaaa 1920 aggeggegge ggeeggeatg ageetgtegg ectacetget ggeegtegge eagggetaca 1980 aaatcacggg cgtcgtggac tatgagcacg tccgcgagct ggcccgcatc aatggcgacc 2040

tgggccgcct gggcggcctg ctgaaactct ggctcaccga cgacccgcgc acggcgcggt 2100 tcggtgatgc cacgatcctc gccctgctgg cgaagatcga agagaagcag gacgagcttg 2160 gcaaggtcat gatgggcgtg gtccgcccga gggcagagcc atgacttttt tagccgctaa 2220 aacggccggg gggtgcgcgt gattgccaag cacgtcccca tgcgctccat caagaagagc 2280 gacttcgcgg agctggtgaa gtacatcacc gacgagcaag gcaagaccga gcgcctttgc 2340 gacgctcacc gggctggttg ccctcgccgc tgggctggcg gccgtctatg gccctgcaaa 2400 cgcgccagaa acgccgtcga agccgtgtgc gagacaccgc ggccgccggc gttgtggata 2460 cctcgcggaa aacttggccc tcactgacag atgaggggcg gacgttgaca cttgaggggc 2520 cgactcaccc ggcgcggcgt tgacagatga ggggcaggct cgatttcggc cggcgacgtg 2580 gagetggeca geetegeaaa teggegaaaa egeetgattt taegegagtt teecacagat 2640 gatgtggaca agcctgggga taagtgccct gcggtattga cacttgaggg gcgcgactac 2700 tgacagatga ggggcgcgat ccttgacact tgaggggcag agtgctgaca gatgaggggc 2760 gcacctattg acatttgagg ggctgtccac aggcagaaaa tccagcattt gcaagggttt 2820 ccgcccgttt ttcggccacc gctaacctgt cttttaacct gcttttaaac caatatttat 2880 aaaccttgtt tttaaccagg gctgcgccct gtgcgcgtga ccgcgcacgc cgaagggggg 2940 tgcccccct tctcgaaccc tcccggcccg ctaacgcggg cctcccatcc ccccaggggc 3000 tgcgcccctc ggccgcgaac ggcctcaccc caaaaatggc agcgctggca gtccttgcca 3060 ttgccgggat cggggcagta acgggatggg cgatcagccc gagcgcgacg cccggaagca 3120 ttgacgtgcc gcaggtgctg gcatcgacat tcagcgacca ggtgccgggc agtgagggcg 3180 geggeetggg tggeggeetg ceetteactt eggeegtegg ggeatteacg gaetteatgg 3240

cggggccggc aatttttacc ttgggcattc ttggcatagt ggtcgcgggt gccgtgctcg 3300 tqttcqqqqq tqcqataaac ccagcgaacc atttgaggtg ataggtaaga ttataccgag 3360 gtatgaaaac gagaattgga cctttacaga attactctat gaagcgccat atttaaaaag 3420 ctaccaagac gaagaggatg aagaggatga ggaggcagat tgccttgaat atattgacaa 3480 tactgataag ataatatatc ttttatatag aagatatcgc cgtatgtaag gatttcaggg 3540 ggcaaggcat aggcagcgcg cttatcaata tatctataga atgggcaaag cataaaaact 3600 tgcatggact aatgcttgaa acccaggaca ataaccttat agcttgtaaa ttctatcata 3660 attgggtaat gactccaact tattgatagt gttttatgtt cagataatgc ccgatgactt 3720 tqtcatqcag ctccaccgat tttgagaacg acagcgactt ccgtcccagc cgtgccaggt 3780 gctgcctcag attcaggtta tgccgctcaa ttcgctgcgt atatcgcttg ctgattacgt 3840 qcaqctttcc cttcagqcgg gattcataca gcggccagcc atccgtcatc catatcacca 3900 cgtcaaaggg tgacagcagg ctcataagac gccccagcgt cgccatagtg cgttcaccga 3960 atacgtgcgc aacaaccgtc ttccggagac tgtcatacgc gtaaaacagc cagcgctggc 4020 gcgatttagc cccgacatag ccccactgtt cgtccatttc cgcgcagacg atgacgtcac 4080 tgcccggctg tatgcgcgag gttaccgact gcggcctgag ttttttaagt gacgtaaaat 4140 cgtgttgagg ccaacgccca taatgcgggc tgttgcccgg catccaacgc cattcatggc 4200 catatcaatg attttctggt gcgtaccggg ttgagaagcg gtgtaagtga actgcagttg 4260 ccatgtttta cggcagtgag agcagagata gcgctgatgt ccggcggtgc ttttgccgtt 4320 acgcaccacc ccgtcagtag ctgaacagga gggacagctg atagacacag aagccactgg 4380 agcacctcaa aaacaccatc atacactaaa tcagtaagtt ggcagcatca cccataattg 4440

tggtttcaaa atcggctccg tcgatactat gttatacgcc aactttgaaa acaactttga 4500 aaaagctgtt ttctggtatt taaggtttta gaatgcaagg aacagtgaat tggagttcgt 4560 cttqttataa ttagcttctt ggggtatctt taaatactgt agaaaagagg aaggaaataa 4620 taaatggcta aaatgagaat atcaccggaa ttgaaaaaac tgatcgaaaa ataccgctgc 4680 gtaaaagata cggaaggaat gtctcctgct aaggtatata agctggtggg agaaaatgaa 4740 aacctatatt taaaaatgac ggacagccgg tataaaggga ccacctatga tgtggaacgg 4800 gaaaaggaca tgatgctatg gctggaagga aagctgcctg ttccaaaggt cctgcacttt 4860 gaacggcatg atggctggag caatctgctc atgagtgagg ccgatggcgt cctttgctcg 4920 qaaqaqtatg aagatgaaca aagccctgaa aagattatcg agctgtatgc ggagtgcatc 4980 aggetettte actecatega catateggat tgteectata egaatagett agacageege 5040 ttagccgaat tggattactt actgaataac gatctggccg atgtggattg cgaaaactgg 5100 gaagaagaca ctccatttaa agatccgcgc gagctgtatg atttttaaa gacggaaaag 5160 cccgaagagg aacttgtctt ttcccacggc gacctgggag acagcaacat ctttgtgaaa 5220 gatggcaaag taagtggctt tattgatctt gggagaagcg gcagggcgga caagtggtat 5280 gacattgcct tctgcgtccg gtcgatcagg gaggatatcg gggaagaaca gtatgtcgag 5340 ctggatgaat tgttttagta cctagatgtg gcgcaacgat gccggcgaca agcaggagcg 5460 caccgacttc ttccgcatca agtgttttgg ctctcaggcc gaggcccacg gcaagtattt 5520 gggcaagggg tcgctggtat tcgtgcaggg caagattcgg aataccaagt acgagaagga 5580 cggccagacg gtctacggga ccgacttcat tgccgataag gtggattatc tggacaccaa 5640

ggcaccaggc gggtcaaatc aggaataagg gcacattgcc ccggcgtgag tcggggcaat 5700 cccgcaagga gggtgaatga atcggacgtt tgaccggaag gcatacaggc aagaactgat 5760 cgacgegggg ttttccgccg aggatgccga aaccatcgca agccgcaccg tcatgcgtgc 5820 gccccgcgaa accttccagt ccgtcggctc gatggtccag caagctacgg ccaagatcga 5880 gcgcgacagc gtgcaactgg ctccccctgc cctgcccgcg ccatcggccg ccgtggagcg 5940 ttcgcgtcgt ctcgaacagg aggcggcagg tttggcgaag tcgatgacca tcgacacgcg 6000 aggaactatg acgaccaaga agcgaaaaac cgccggcgag gacctggcaa aacaggtcag 6060 cgaggccaag caggccgcgt tgctgaaaca cacgaagcag cagatcaagg aaatgcagct 6120 ttccttgttc gatattgcgc cgtggccgga cacgatgcga gcgatgccaa acgacacggc 6180 ccqctctqcc ctqttcacca cgcgcaacaa gaaaatcccg cgcgaggcgc tgcaaaacaa 6240 ggtcattttc cacgtcaaca aggacgtgaa gatcacctac accggcgtcg agctgcgggc 6300 cgacgatgac gaactggtgt ggcagcaggt gttggagtac gcgaagcgca cccctatcgg 6360 cgagccgatc accttcacgt tctacgagct ttgccaggac ctgggctggt cgatcaatgg 6420 ccggtattac acgaaggccg aggaatgcct gtcgcgccta caggcgacgg cgatgggctt 6480 cacgtccgac cgcgttgggc acctggaatc ggtgtcgctg ctgcaccgct tccgcgtcct 6540 ggaccgtggc aagaaaacgt cccgttgcca ggtcctgatc gacgaggaaa tcgtcgtgct 6600 gtttgctggc gaccactaca cgaaattcat atgggagaag taccgcaagc tgtcgccgac 6660 ggcccgacgg atgttcgact atttcagctc gcaccgggag ccgtacccgc tcaagctgga 6720 aaccttccgc ctcatgtgcg gatcggattc cacccgcgtg aagaagtggc gcgagcaggt 6780 cggcgaagcc tgcgaagagt tgcgaggcag cggcctggtg gaacacgcct gggtcaatga 6840

tgacctggtg cattgcaaac gctagggcct tgtggggtca gttccggctg ggggttcagc 6900 agccagcgct ttactggcat ttcaggaaca agcgggcact gctcgacgca cttgcttcgc 6960 tcagtatcgc tcgggacgca cggcgcgctc tacgaactgc cgataaacag aggattaaaa 7020 ttgacaattg tgattaaggc tcagattcga cggcttggag cggccgacgt gcaggatttc 7080 cgcgagatcc gattgtcggc cctgaagaaa gctccagaga tgttcgggtc cgtttacgag 7140 cacgaggaga aaaagcccat ggaggcgttc gctgaacggt tgcgagatgc cgtggcattc 7200 ggcgcctaca tcgacggcga gatcattggg ctgtcggtct tcaaacagga ggacggcccc 7260 aaggacgete acaaggegea tetgteegge gttttegtgg ageeegaaca gegaggeega 7320 ggggtcgccg gtatgctgct gcgggcgttg ccggcgggtt tattgctcgt gatgatcgtc 7380 cgacagattc caacgggaat ctggtggatg cgcatcttca tcctcggcgc acttaatatt 7440 tegetattet ggagettgtt gtttattteg gtctacegee tgeegggegg ggtegeggeg 7500 acggtaggcg ctgtgcagcc gctgatggtc gtgttcatct ctgccgctct gctaggtagc 7560 ccgatacgat tgatggcggt cctgggggct atttgcggaa ctgcgggcgt ggcgctgttg 7620 gtgttgacac caaacgcagc gctagatcct gtcggcgtcg cagcgggcct ggcgggggcg 7680 gtttccatgg cgttcggaac cgtgctgacc cgcaagtggc aacctcccgt gcctctgctc 7740 acctttaccg cctggcaact ggcggccgga ggacttctgc tcgttccagt agctttagtg 7800 tttgatccgc caatcccgat gcctacagga accaatgttc tcggcctggc gtggctcggc 7860 ctgatcggag cgggtttaac ctacttcctt tggttccggg ggatctcgcg actcgaacct 7920 acagttgttt ccttactggg ctttctcagc cccagatctg gggtcgatca gccggggatg 7980 catcaggccg acagtcggaa cttcgggtcc ccgacctgta ccattcggtg agcaatggat 8040

aggggagttg atatcgtcaa cgttcacttc taaagaaata gcgccactca gcttcctcag 8100 cggctttatc cagcgatttc ctattatgtc ggcatagttc tcaagatcga cagcctgtca 8160 cggttaagcg agaaatgaat aagaaggctg ataattcgga tctctgcgag ggagatgata 8220 tttgatcaca ggcagcaacg ctctgtcatc gttacaatca acatgctacc ctccgcgaga 8280 tcatccgtgt ttcaaacccg gcagcttagt tgccgttctt ccgaatagca tcggtaacat 8340 gagcaaagtc tgccgcctta caacggctct cccgctgacg ccgtcccgga ctgatgggct 8400 gcctgtatcg agtggtgatt ttgtgccgag ctgccggtcg gggagctgtt ggctggctgg 8460 tggcaggata tattgtggtg taaacaaatt gacgcttaga caacttaata acacattgcg 8520 gacgttttta atgtactggg gtggtttttc ttttcaccag tgagacgggc aacagctgat 8580 tgcccttcac cgcctggccc tgagagagtt gcagcaagcg gtccacgctg gtttgcccca 8640 gcaggcgaaa atcctgtttg atggtggttc cgaaatcggc aaaatccctt ataaatcaaa 8700 agaatagccc gagatagggt tgagtgttgt tccagtttgg aacaagagtc cactattaaa 8760 gaacgtggac tccaacgtca aagggcgaaa aaccgtctat cagggcgatg gcccactacg 8820 tgaaccatca cccaaatcaa gttttttggg gtcgaggtgc cgtaaagcac taaatcggaa 8880 ccctaaaggg agcccccgat ttagagcttg acggggaaag ccggcgaacg tggcgagaaa 8940 ggaagggaag aaagcgaaag gagcgggcgc cattcaggct gcgcaactgt tgggaagggc 9000 gatcggtgcg ggcctcttcg ctattacgcc agctggcgaa agggggatgt gctgcaaggc 9060 gattaagttg ggtaacgcca gggttttccc agtcacgacg ttgtaaaacg acggccagtg 9120 aattaattcc catcttgaaa gaaatatagt ttaaatattt attgataaaa taacaagtca 9180 ggtattatag tccaagcaaa aacataaatt tattgatgca agtttaaatt cagaaatatt 9240

tcaataactg attatatcag ctggtacatt gccgtagatg aaagactgag tgcgatatta 9300 tgtgtaatac ataaattgat gatatagcta gcttagctca tcggggggatc cgtcgaagct 9360 agcttqqqtc ccqctcagaa gaactcgtca agaaggcgat agaaggcgat gcgctgcgaa 9420 tegggagegg egatacegta aageaegagg aageggteag eccattegee gecaagetet 9480 tcagcaatat cacgggtagc caacgctatg tcctgatagc ggtccgccac acccagccgg 9540 ccacagtcga tgaatccaga aaagcggcca ttttccacca tgatattcgg caagcaggca 9600 tcgccatggg tcacgacgag atcctcgccg tcgggcatgc gcgccttgag cctggcgaac 9660 agtteggetg gegegageee etgatgetet tegteeagat eateetgate gacaagaeeg 9720 gettecatee gagtaegtge tegetegatg egatgttteg ettggtggte gaatgggeag 9780 gtagccggat caagcgtatg cagccgccgc attgcatcag ccatgatgga tactttctcg 9840 gcaggagcaa ggtgagatga caggagatcc tgccccggca cttcgcccaa tagcagccag 9900 tecetteeeg etteagtgae aaegtegage aeagetgege aaggaaegee egtegtggee 9960 agccacgata gccgcgctgc ctcgtcctgc agttcattca gggcaccgga caggtcggtc 10020 ttgacaaaaa gaaccgggcg cccctgcgct gacagccgga acacggcggc atcagagcag 10080 ccgattgtct gttgtgccca gtcatagccg aatagcctct ccacccaagc ggccggagaa 10140 cctgcgtgca atccatcttg ttcaatccaa gctcccatgg gccctcgact agagtcgaga 10200 tctggattga gagtgaatat gagactctaa ttggataccg aggggaattt atggaacgtc 10260 agtggagcat ttttgacaag aaatatttgc tagctgatag tgaccttagg cgacttttga 10320 acgcgcaata atggtttctg acgtatgtgc ttagctcatt aaactccaga aacccgcggc 10380 tgagtggctc cttcaacgtt gcggttctgt cagttccaaa cgtaaaacgg cttgtcccgc 10440

gtcatcggcg ggggtcataa cgtgactccc ttaattctcc gctcatgatc ttgatcccct 10500 gcgccatcag atccttggcg gcaagaaagc catccagttt actttgcagg gcttcccaac 10560 cttaccagag ggcgccccag ctggcaattc cggttcgctt gctgtccata aaaccgccca 10620 qtctagctat cgccatgtaa gcccactgca agctacctgc tttctctttg cgcttgcgtt 10680 ttcccttqtc cagatagccc agtagctgac attcatccgg ggtcagcacc gtttctgcgg 10740 actggctttc tacgtgttcc gcttccttta gcagcccttg cgccctgagt gcttgcggca 10800 gcgtgaagct tgcatgcctg caggtcgacg gcgcgccgag ctcctcgagc aaatttacac 10860 attgccacta aacgtctaaa cccttgtaat ttgtttttgt tttactatgt gtgttatgta 10920 tttgatttgc gataaatttt tatatttggt actaaattta taacaccttt tatgctaacg 10980 tttgccaaca cttagcaatt tgcaagttga ttaattgatt ctaaattatt tttgtcttct 11040 aaatacatat actaatcaac tggaaatgta aatatttgct aatatttcta ctataggaga 11100 attaaagtga gtgaatatgg taccacaagg tttggagatt taattgttgc aatgctgcat 11160 qqatqqcata tacaccaaac attcaataat tcttgaggat aataatggta ccacacaaga 11220 tttgaggtgc atgaacgtca cgtggacaaa aggtttagta atttttcaag acaacaatgt 11280 taccacaca aagttttgag gtgcatgcat ggatgccctg tggaaagttt aaaaatattt 11340 tggaaatgat ttgcatggaa gccatgtgta aaaccatgac atccacttgg aggatgcaat 11400 aatgaagaaa actacaaatt tacatgcaac tagttatgca tgtagtctat ataatgagga 11460 ttttgcaata ctttcattca tacacactca ctaagtttta cacgattata atttcttcat 11520 agccagcaga tecgatateg ggeeegetag egttaaceet getttaatga gatatgegag 11580 acgcctatga tcgcatgata tttgctttca attctgttgt gcacgttgta aaaaacctga 11640

gcatgtgtag ctcagatcct taccgccggt ttcggttcat tctaatgaat atatcacccg 11700
ttactatcgt attttatga ataatattct ccgttcaatt tactgattgt ccgtcgacga 11760
attcgagctc ggcgcgcctc tagaggatcg atgaattcag atcggctgag tggctccttc 11820
aacgttgcgg ttctgtcagt tccaaacgta aaacggcttg tcccgcgtca tcggcggggg 11880
tcataacgtg actcccttaa ttctccgctc atgatcagat tgtcgtttcc cgccttcagt 11940
ttaaactatc agtgtttgac aggatatatt ggcgggtaaa cctaagagaa aagagcgtt 12000
attagaataa tcggatattt aaaagggcgt gaaaaggttt atccttcgtc catttgtatg 12060
tgcatgccaa ccacagggtt cccca 12085

- <210> 40
- <211> 12079
- <212> DNA
- <213> Unknown
- <220>
- <223> pflanzlicher Expressionsvektor mit einer Promotor-Terminator-Expressionskassette

<400> 40
gatctggcgc cggccagcga gacgagcaag attggccgcc gcccgaaacg atccgacagc 60
gcgcccagca caggtgcgca ggcaaattgc accaacgcat acagcgccag cagaatgcca 120
tagtgggcgg tgacgtcgtt cgagtgaacc agatcgcga ggaggcccgg cagcaccggc 180
ataatcaggc cgatgccgac agcgtcgagc gcgacagtgc tcagaattac gatcagggt 240
atgttgggtt tcacgtctgg cctccggacc agcctccgct ggtccgattg aacggcgga 300
ttctttatca ctgataagtt ggtggacata ttatgtttat cagtgataaa gtgtcaagca 360
tgacaaagtt gcagccgaat acagtgatcc gtgccgcct ggacctgttg aacgaggtcg 420

gcgtagacgg tctgacgaca cgcaaactgg cggaacggtt gggggttcag cagccggcgc 480 tttactggca cttcaggaac aagcgggcgc tgctcgacgc actggccgaa gccatgctgg 540 cggagaatca tacgcattcg gtgccgagag ccgacgacga ctggcgctca tttctgatcg 600 ggaatgcccg cagcttcagg caggcgctgc tcgcctaccg cgatggcgcg cgcatccatg 660 ccggcacgcg accgggcgca ccgcagatgg aaacggccga cgcgcagctt cgcttcctct 720 gcgaggcggg tttttcggcc ggggacgccg tcaatgcgct gatgacaatc agctacttca 780 ctgttggggc cgtgcttgag gagcaggccg gcgacagcga tgccggcgag cgcggcggca 840 ccgttgaaca ggctccgctc tcgccgctgt tgcgggccgc gatagacgcc ttcgacgaag 900 ccggtccgga cgcagcgttc gagcagggac tcgcggtgat tgtcgatgga ttggcgaaaa 960 ggaggetegt tgteaggaae gttgaaggae egagaaaggg tgaegattga teaggaeege 1020 tgccggagcg caacccactc actacagcag agccatgtag acaacatccc ctcccccttt 1080 ccaccgcgtc agacgcccgt agcagcccgc tacgggcttt ttcatgccct gccctagcgt 1140 ccaagcctca cggccgcgct cggcctctct ggcggccttc tggcgctctt ccgcttcctc 1200 geteactgae tegetgeget eggtegtteg getgeggega geggtateag eteacteaaa 1260 ggcggtaata cggttatcca cagaatcagg ggataacgca ggaaagaaca tgtgagcaaa 1320 aggccagcaa aaggccagga accgtaaaaa ggccgcgttg ctggcgtttt tccataggct 1380 ccgccccct gacgagcatc acaaaaatcg acgctcaagt cagaggtggc gaaacccgac 1440 aggactataa agataccagg cgtttccccc tggaagctcc ctcgtgcgct ctcctgttcc 1500 gaccetgeeg ettaceggat acetgteege ettteteeet tegggaageg tggegetttt 1560 ccgctgcata accctgcttc ggggtcatta tagcgatttt ttcggtatat ccatcctttt 1620

togcacgata tacaggattt tgccaaaggg ttogtgtaga ctttccttgg tgtatccaac 1680 ggcgtcagcc gggcaggata ggtgaagtag gcccaccege gagcgggtgt tccttcttca 1740 ctgtccctta ttcgcacctg gcggtgctca acgggaatcc tgctctgcga ggctggccgg 1800 ctaccgccgg cgtaacagat gagggcaagc ggatggctga tgaaaccaag ccaaccagga 1860 agggcagccc acctatcaag gtgtactgcc ttccagacga acgaagagcg attgaggaaa 1920 aggcggcggc ggccggcatg agcctgtcgg cctacctgct ggccgtcggc cagggctaca 1980 aaatcacggg cgtcgtggac tatgagcacg tccgcgagct ggcccgcatc aatggcgacc 2040 tgggccgcct gggcggcctg ctgaaactct ggctcaccga cgacccgcgc acggcgcggt 2100 teggtgatge caegateete geeetgetgg egaagatega agagaageag gaegagettg 2160 gcaaggtcat gatgggcgtg gtccgcccga gggcagagcc atgacttttt tagccgctaa 2220 aacggccggg gggtgcgcgt gattgccaag cacgtcccca tgcgctccat caagaagagc 2280 gacttcgcgg agctggtgaa gtacatcacc gacgagcaag gcaagaccga gcgcctttgc 2340 gacgeteace gggetggttg ceetegeege tgggetggeg geegtetatg geeetgeaaa 2400 cgcgccagaa acgccgtcga agccgtgtgc gagacaccgc ggccgccggc gttgtggata 2460 cctcgcggaa aacttggccc tcactgacag atgagggcg gacgttgaca cttgaggggc 2520 cgactcaccc ggcgcggcgt tgacagatga ggggcaggct cgatttcggc cggcgacgtg 2580 gagctggcca gcctcgcaaa tcggcgaaaa cgcctgattt tacgcgagtt tcccacagat 2640 gatgtggaca agcctgggga taagtgccct gcggtattga cacttgaggg gcgcgactac 2700 tgacagatga ggggcgcgat ccttgacact tgaggggcag agtgctgaca gatgaggggc 2760 gcacctattg acatttgagg ggctgtccac aggcagaaaa tccagcattt gcaagggttt 2820

ccqcccqttt ttcggccacc gctaacctgt cttttaacct gcttttaaac caatatttat 2880 aaaccttgtt tttaaccagg getgegeect gtgegegtga eegegeaege egaagggggg 2940 tgcccccct tctcgaaccc tcccggcccg ctaacgcggg cctcccatcc ccccaggggc 3000 tgcgcccctc ggccgcgaac ggcctcaccc caaaaatggc agcgctggca gtccttgcca 3060 ttgccgggat cggggcagta acgggatggg cgatcagccc gagcgcgacg cccggaagca 3120 ttgacgtgcc gcaggtgctg gcatcgacat tcagcgacca ggtgccgggc agtgagggcg 3180 geggeetggg tggeggeetg ceetteaett eggeegtegg ggeatteaeg gaetteatgg 3240 eggggeegge aattittace tigggeatte tiggeatagt ggtegegggt geegtgeteg 3300 tgttcggggg tgcgataaac ccagcgaacc atttgaggtg ataggtaaga ttataccgag 3360 gtatgaaaac gagaattgga cctttacaga attactctat gaagcgccat atttaaaaag 3420 ctaccaagac gaagaggatg aagaggatga ggaggcagat tgccttgaat atattgacaa 3480 tactgataag ataatatatc ttttatatag aagatatcgc cgtatgtaag gatttcaggg 3540 ggcaaggcat aggcagcgcg cttatcaata tatctataga atgggcaaag cataaaaact 3600 tgcatggact aatgcttgaa acccaggaca ataaccttat agcttgtaaa ttctatcata 3660 attgggtaat gactccaact tattgatagt gttttatgtt cagataatgc ccgatgactt 3720 tgtcatgcag ctccaccgat tttgagaacg acagcgactt ccgtcccagc cgtgccaggt 3780 gctgcctcag attcaggtta tgccgctcaa ttcgctgcgt atatcgcttg ctgattacgt 3840 gcagctttcc cttcaggcgg gattcataca gcggccagcc atccgtcatc catatcacca 3900 cgtcaaaggg tgacagcagg ctcataagac gccccagcgt cgccatagtg cgttcaccga 3960 atacgtgcgc aacaaccgtc ttccggagac tgtcatacgc gtaaaacagc cagcgctggc 4020

gcgatttagc cccgacatag ccccactgtt cgtccatttc cgcgcagacg atgacgtcac 4080 tgcccggctg tatgcgcgag gttaccgact gcggcctgag ttttttaagt gacgtaaaat 4140 cgtgttgagg ccaacgccca taatgcgggc tgttgcccgg catccaacgc cattcatggc 4200 catatcaatg attttctggt gcgtaccggg ttgagaagcg gtgtaagtga actgcagttg 4260 ccatgtttta cggcagtgag agcagagata gcgctgatgt ccggcggtgc ttttgccgtt 4320 acgcaccacc ccgtcagtag ctgaacagga gggacagctg atagacacag aagccactgg 4380 agcacctcaa aaacaccatc atacactaaa tcagtaagtt ggcagcatca cccataattg 4440 tggtttcaaa atcggctccg tcgatactat gttatacgcc aactttgaaa acaactttga 4500 aaaagctgtt ttctggtatt taaggtttta gaatgcaagg aacagtgaat tggagttcgt 4560 cttgttataa ttagcttctt ggggtatctt taaatactgt agaaaagagg aaggaaataa 4620 taaatggcta aaatgagaat atcaccggaa ttgaaaaaac tgatcgaaaa ataccgctgc 4680 gtaaaagata cggaaggaat gtctcctgct aaggtatata agctggtggg agaaaatgaa 4740 aacctatatt taaaaatgac ggacagccgg tataaaggga ccacctatga tgtggaacgg 4800 gaaaaggaca tgatgctatg gctggaagga aagctgcctg ttccaaaggt cctgcacttt 4860 gaacggcatg atggctggag caatctgctc atgagtgagg ccgatggcgt cctttgctcg 4920 gaagagtatg aagatgaaca aagccctgaa aagattatcg agctgtatgc ggagtgcatc 4980 aggetettte aetecatega eatateggat tgteeetata egaatagett agacageege 5040 ttagccgaat tggattactt actgaataac gatctggccg atgtggattg cgaaaactgg 5100 gaagaagaca ctccatttaa agatccgcgc gagctgtatg attttttaaa gacggaaaag 5160 cccgaagagg aacttgtctt ttcccacggc gacctgggag acagcaacat ctttgtgaaa 5220

gatggcaaag taagtggctt tattgatctt gggagaagcg gcagggcgga caagtggtat 5280 gacattgcct tctgcgtccg gtcgatcagg gaggatatcg gggaagaaca gtatgtcgag 5340 ctggatgaat tgttttagta cctagatgtg gcgcaacgat gccggcgaca agcaggagcg 5460 caccgacttc ttccgcatca agtgttttgg ctctcaggcc gaggcccacg gcaagtattt 5520 gggcaagggg tcgctggtat tcgtgcaggg caagattcgg aataccaagt acgagaagga 5580 cggccagacg gtctacggga ccgacttcat tgccgataag gtggattatc tggacaccaa 5640 ggcaccaggc gggtcaaatc aggaataagg gcacattgcc ccggcgtgag tcggggcaat 5700 cccgcaagga gggtgaatga atcggacgtt tgaccggaag gcatacaggc aagaactgat 5760 cgacgcgggg ttttccgccg aggatgccga aaccatcgca agccgcaccg tcatgcgtgc 5820 geceegegaa acetteeagt eegteggete gatggteeag caagetaegg ccaagatega 5880 gegegacage gtgcaactgg etececetge ectgeeegeg ccateggeeg ecgtggageg 5940 ttcgcgtcgt ctcgaacagg aggcggcagg tttggcgaag tcgatgacca tcgacacgcg 6000 aggaactatg acgaccaaga agcgaaaaac cgccggcgag gacctggcaa aacaggtcag 6060 cgaggccaag caggccgcgt tgctgaaaca cacgaagcag cagatcaagg aaatgcagct 6120 ttccttgttc gatattgcgc cgtggccgga cacgatgcga gcgatgccaa acgacacggc 6180 ccgctctgcc ctgttcacca cgcgcaacaa gaaaatcccg cgcgaggcgc tgcaaaacaa 6240 ggtcattttc cacgtcaaca aggacgtgaa gatcacctac accggcgtcg agctgcgggc 6300 cgacgatgac gaactggtgt ggcagcaggt gttggagtac gcgaagcgca cccctatcgg 6360 cgagccgatc accttcacgt tctacgagct ttgccaggac ctgggctggt cgatcaatgg 6420

ccggtattac acgaaggccg aggaatgcct gtcgcgccta caggcgacgg cgatgggctt 6480 cacgtccgac cgcgttgggc acctggaatc ggtgtcgctg ctgcaccgct tccgcgtcct 6540 ggaccgtggc aagaaaacgt cccgttgcca ggtcctgatc gacgaggaaa tcgtcgtgct 6600 gtttgctggc gaccactaca cgaaattcat atgggagaag taccgcaagc tgtcgccgac 6660 ggcccgacgg atgttcgact atttcagctc gcaccgggag ccgtacccgc tcaagctgga 6720 aaccttccgc ctcatgtgcg gatcggattc cacccgcgtg aagaagtggc gcgagcaggt 6780 cggcgaagcc tgcgaagagt tgcgaggcag cggcctggtg gaacacgcct gggtcaatga 6840 tgacctggtg cattgcaaac gctagggcct tgtggggtca gttccggctg ggggttcagc 6900 agccagcgct ttactggcat ttcaggaaca agcgggcact gctcgacgca cttgcttcgc 6960 tcagtatcgc tcgggacgca cggcgcgctc tacgaactgc cgataaacag aggattaaaa 7020 ttgacaattg tgattaaggc tcagattcga cggcttggag cggccgacgt gcaggatttc 7080 eqeqagatee gattgtegge cetgaagaaa geteeagaga tgttegggte egtttacgag 7140 cacgaggaga aaaagcccat ggaggcgttc gctgaacggt tgcgagatgc cgtggcattc 7200 ggcgcctaca tcgacggcga gatcattggg ctgtcggtct tcaaacagga ggacggcccc 7260 aaggacgete acaaggegea tetgteegge gttttegtgg ageeegaaca gegaggeega 7320 ggggtcgccg gtatgctgct gegggcgttg ceggegggtt tattgctcgt gatgategte 7380 cgacagattc caacgggaat ctggtggatg cgcatcttca tcctcggcgc acttaatatt 7440 tegetattet ggagettgtt gtttattteg gtetacegee tgeegggegg ggtegeggeg 7500 acggtaggcg ctgtgcagcc gctgatggtc gtgttcatct ctgccgctct gctaggtagc 7560 ccgatacgat tgatggcggt cctgggggct atttgcggaa ctgcgggcgt ggcgctgttg 7620 gtgttgacac caaacgcagc gctagatcct gtcggcgtcg cagcggggcct ggcgggggcg 7680 gtttccatgg cgttcggaac cgtgctgacc cgcaagtggc aacctcccgt gcctctgctc 7740 acctttaccg cctggcaact ggcggccgga ggacttctgc tcgttccagt agctttagtg 7800 tttgatccgc caatcccgat gcctacagga accaatgttc tcggcctggc gtggctcggc 7860 ctgatcggag cgggtttaac ctacttcctt tggttccggg ggatctcgcg actcgaacct 7920 acagttgttt ccttactggg ctttctcagc cccagatctg gggtcgatca gccggggatg 7980 catcaggccg acagtcggaa cttcgggtcc ccgacctgta ccattcggtg agcaatggat 8040 aggggagttg atatcgtcaa cgttcacttc taaagaaata gcgccactca gcttcctcag 8100 cggctttatc cagcgatttc ctattatgtc ggcatagttc tcaagatcga cagcctgtca 8160 cggttaagcg agaaatgaat aagaaggctg ataattcgga tctctgcgag ggagatgata 8220 tttgatcaca ggcagcaacg ctctgtcatc gttacaatca acatgctacc ctccgcgaga 8280 tcatccgtgt ttcaaacccg gcagcttagt tgccgttctt ccgaatagca tcggtaacat 8340 gagcaaagtc tgccgcctta caacggctct cccgctgacg ccgtcccgga ctgatgggct 8400 gcctgtatcg agtggtgatt ttgtgccgag ctgccggtcg gggagctgtt ggctggctgg 8460 tggcaggata tattgtggtg taaacaaatt gacgcttaga caacttaata acacattgcg 8520 gacgttttta atgtactggg gtggtttttc ttttcaccag tgagacgggc aacagctgat 8580 tgcccttcac cgcctggccc tgagagagtt gcagcaagcg gtccacgctg gtttgcccca 8640 gcaggcgaaa atcctgtttg atggtggttc cgaaatcggc aaaatccctt ataaatcaaa 8700 agaatagccc gagatagggt tgagtgttgt tccagtttgg aacaagagtc cactattaaa 8760 gaacgtggac tccaacgtca aagggcgaaa aaccgtctat cagggcgatg gcccactacg 8820

tgaaccatca cccaaatcaa gttttttggg gtcgaggtgc cgtaaagcac taaatcggaa 8880 ccctaaaggg agcccccgat ttagagcttg acggggaaag ccggcgaacg tggcgagaaa 8940 ggaagggaag aaagcgaaag gagcgggcgc cattcaggct gcgcaactgt tgggaagggc 9000 gateggtgcg ggcctcttcg ctattacgcc agctggcgaa aggggggatgt gctgcaaggc 9060 gattaagttg ggtaacgcca gggttttccc agtcacgacg ttgtaaaacg acggccagtg 9120 aattaattcc catcttgaaa gaaatatagt ttaaatattt attgataaaa taacaagtca 9180 ggtattatag tccaagcaaa aacataaatt tattgatgca agtttaaatt cagaaatatt 9240 tcaataactg attatatcag ctggtacatt geegtagatg aaagaetgag tgegatatta 9300 tgtgtaatac ataaattgat gatatagcta gcttagctca tcggggggatc cgtcgaagct 9360 agcttgggtc ccgctcagaa gaactcgtca agaaggcgat agaaggcgat gcgctgcgaa 9420 tcgggagcgg cgataccgta aagcacgagg aagcggtcag cccattcgcc gccaagctct 9480 tcagcaatat cacgggtagc caacgctatg tcctgatagc ggtccgccac acccagccgg 9540 ccacagtcga tgaatccaga aaagcggcca ttttccacca tgatattcgg caagcaggca 9600 tegecatggg teaegaegag atectegeeg tegggeatge gegeettgag cetggegaae 9660 agttcggctg gcgcgagccc ctgatgctct tcgtccagat catcctgatc gacaagaccg 9720 gcttccatcc gagtacgtgc tcgctcgatg cgatgtttcg cttggtggtc gaatgggcag 9780 gtagccggat caagcgtatg cagccgccgc attgcatcag ccatgatgga tactttctcg 9840 gcaggagcaa ggtgagatga caggagatcc tgccccggca cttcgcccaa tagcagccag 9900 tecetteeeg etteagtgae aaegtegage aeagetgege aaggaaegee egtegtggee 9960 agccacgata gccgcgctgc ctcgtcctgc agttcattca gggcaccgga caggtcggtc 10020

ttgacaaaaa gaaccgggcg cccctgcgct gacagccgga acacggcggc atcagagcag 10080 ccgattgtct gttgtgccca gtcatagccg aatagcctct ccacccaagc ggccggagaa 10140 cctgcgtgca atccatcttg ttcaatccaa gctcccatgg gccctcgact agagtcgaga 10200 tctggattga gagtgaatat gagactctaa ttggataccg aggggaattt atggaacgtc 10260 agtggagcat ttttgacaag aaatatttgc tagctgatag tgaccttagg cgacttttga 10320 acgcgcaata atggtttctg acgtatgtgc ttagctcatt aaactccaga aacccgcggc 10380 tgagtggctc cttcaacgtt gcggttctgt cagttccaaa cgtaaaacgg cttgtcccgc 10440 gtcatcggcg ggggtcataa cgtgactccc ttaattctcc gctcatgatc ttgatcccct 10500 gcgccatcag atccttggcg gcaagaaagc catccagttt actttgcagg gcttcccaac 10560 cttaccagag ggcgccccag ctggcaattc cggttcgctt gctgtccata aaaccgccca 10620 gtctagctat cgccatgtaa gcccactgca agctacctgc tttctctttg cgcttgcgtt 10680 ttcccttgtc cagatagccc agtagctgac attcatccgg ggtcagcacc gtttctgcgg 10740 actggctttc tacgtgttcc gcttccttta gcagcccttg cgccctgagt gcttgcggca 10800 gcgtgaaget tgcatgcctg caggtcgacg gcgcgccgag ctcctcgage aaatttacac 10860 attgccacta aacgtctaaa cccttgtaat ttgtttttgt tttactatgt gtgttatgta 10920 tttgatttgc gataaatttt tatatttggt actaaattta taacaccttt tatgctaacg 10980 tttgccaaca cttagcaatt tgcaagttga ttaattgatt ctaaattatt tttgtcttct 11040 aaatacatat actaatcaac tggaaatgta aatatttgct aatatttcta ctataggaga 11100 attaaagtga gtgaatatgg taccacaagg tttggagatt taattgttgc aatgctgcat 11160 ggatggcata tacaccaaac attcaataat tcttgaggat aataatggta ccacacaaga 11220

tttgaggtgc atgaacgtca cgtggacaaa aggtttagta atttttcaag acaacaatgt 11280 taccacacac aagttttgag gtgcatgcat ggatgccctg tggaaagttt aaaaatattt 11340 tggaaatgat ttgcatggaa gccatgtgta aaaccatgac atccacttgg aggatgcaat 11400 aatgaagaaa actacaaatt tacatgcaac tagttatgca tgtagtctat ataatgagga 11460 ttttgcaata ctttcattca tacacactca ctaagtttta cacgattata atttcttcat 11520 agccagcaga tctgccggca tcgatcccgg gccatggcct gctttaatga gatatgcgag 11580 acgcctatga tcgcatgata tttgctttca attctgttgt gcacgttgta aaaaacctga 11640 gcatgtgtag ctcagatcct taccgccggt ttcggttcat tctaatgaat atatcacccg 11700 ttactategt attittatga ataatatict eegiteaatt taetgatigt eegiegaega 11760 gctcggcgcg cctctagagg atcgatgaat tcagatcggc tgagtggctc cttcaacgtt 11820 gcggttctgt cagttccaaa cgtaaaacgg cttgtcccgc gtcatcggcg ggggtcataa 11880 cqtqactccc ttaattctcc gctcatgatc agattgtcgt ttcccgcctt cagtttaaac 11940 tatcagtgtt tgacaggata tattggcggg taaacctaag agaaaagagc gtttattaga 12000 ataatcggat atttaaaagg gcgtgaaaag gtttatcctt cgtccatttg tatgtgcatg 12060 12079 ccaaccacag ggttcccca

<210> 41

<211> 13002

<212> DNA

<213> Unknown

<220>

<223> pflanzlicher Expressionsvektor mit zwei Promotor-Terminator-Expressionskassetten

<400> 41 gatctggcgc cggccagcga gacgagcaag attggccgcc gcccgaaacg atccgacagc 60 gcgcccagca caggtgcgca ggcaaattgc accaacgcat acagcgccag cagaatgcca 120 tagtgggegg tgacgtcgtt cgagtgaacc agatcgegca ggaggecegg cageacegge 180 ataatcagge egatgeegae agegtegage gegacagtge teagaattae gatcaggggt 240 atgttgggtt teaegtetgg ceteeggace ageeteeget ggteegattg aaegegegga 300 ttctttatca ctgataagtt ggtggacata ttatgtttat cagtgataaa gtgtcaagca 360 tgacaaagtt gcagccgaat acagtgatcc gtgccgccct ggacctgttg aacgaggtcg 420 gcgtagacgg tctgacgaca cgcaaactgg cggaacggtt gggggttcag cagccggcgc 480 tttactggca cttcaggaac aagcgggcgc tgctcgacgc actggccgaa gccatgctgg 540 cggagaatca tacgcattcg gtgccgagag ccgacgacga ctggcgctca tttctgatcg 600 ggaatgcccg cagcttcagg caggcgctgc tcgcctaccg cgatggcgcg cgcatccatg 660 eeggeaegeg acegggegea eegeagatgg aaaeggeega egegeagett egetteetet 720 gegaggeggg ttttteggee ggggaegeeg teaatgeget gatgaeaate agetaettea 780 ctgttggggc cgtgcttgag gagcaggccg gcgacagcga tgccggcgag cgcggcggca 840 ccgttgaaca ggctccgctc tcgccgctgt tgcgggccgc gatagacgcc ttcgacgaag 900 ccggtccgga cgcagcgttc gagcagggac tcgcggtgat tgtcgatgga ttggcgaaaa 960 ggaggetegt tgteaggaac gttgaaggae egagaaaggg tgaegattga teaggaeege 1020 tgccggagcg caacccactc actacagcag agccatgtag acaacatccc ctccccttt 1080 ccaccgcgtc agacgcccgt agcagcccgc tacgggcttt ttcatgccct gccctagcgt 1140

ccaagectea eggeegeet eggeetetet ggeggeette tggegetett eegetteete 1200 gctcactgac tcgctgcgct cggtcgttcg gctgcggcga gcggtatcag ctcactcaaa 1260 ggcggtaata cggttatcca cagaatcagg ggataacgca ggaaagaaca tgtgagcaaa 1320 aggccagcaa aaggccagga accgtaaaaa ggccgcgttg ctggcgtttt tccataggct 1380 ccgccccct gacgagcatc acaaaaatcg acgctcaagt cagaggtggc gaaacccgac 1440 aggactataa agataccagg cgtttccccc tggaagctcc ctcgtgcgct ctcctgttcc 1500 gaccetgeeg ettaceggat acetgteege ettteteeet tegggaageg tggegetttt 1560 ccgctgcata accctgcttc ggggtcatta tagcgatttt ttcggtatat ccatcctttt 1620 tcgcacgata tacaggattt tgccaaaggg ttcgtgtaga ctttccttgg tgtatccaac 1680 ggcgtcagcc gggcaggata ggtgaagtag gcccacccgc gagcgggtgt tccttcttca 1740 ctgtccctta ttcgcacctg gcggtgctca acgggaatcc tgctctgcga ggctggccgg 1800 ctaccgccgg cgtaacagat gagggcaagc ggatggctga tgaaaccaag ccaaccagga 1860 agggcagccc acctatcaag gtgtactgcc ttccagacga acgaagagcg attgaggaaa 1920 aggeggegge ggeeggeatg ageetgtegg ectacetget ggeegtegge cagggetaca 1980 aaatcacggg cgtcgtggac tatgagcacg tccgcgagct ggcccgcatc aatggcgacc 2040 tgggccgcct gggcggcctg ctgaaactct ggctcaccga cgacccgcgc acggcgcggt 2100 teggtgatge caegateete geeetgetgg egaagatega agagaageag gaegagettg 2160 gcaaggtcat gatgggcgtg gtccgcccga gggcagagcc atgacttttt tagccgctaa 2220 aacggccggg gggtgcgcgt gattgccaag cacgtcccca tgcgctccat caagaagagc 2280 gacttegegg agetggtgaa gtacateace gacgageaag geaagacega gegeetttge 2340

gacgeteace gggetggttg ceetegeege tgggetggeg geegtetatg geeetgeaaa 2400 cgcgccagaa acgccgtcga agccgtgtgc gagacaccgc ggccgccggc gttgtggata 2460 cctcgcggaa aacttggccc tcactgacag atgaggggcg gacgttgaca cttgaggggc 2520 cgactcaccc ggcgcggcgt tgacagatga ggggcaggct cgatttcggc cggcgacgtg 2580 qaqctqqcca qcctcgcaaa tcggcgaaaa cgcctgattt tacgcgagtt tcccacagat 2640 gatgtggaca agcctgggga taagtgccct gcggtattga cacttgaggg gcgcgactac 2700 tgacagatga ggggcgcgat ccttgacact tgaggggcag agtgctgaca gatgaggggc 2760 gcacctattg acatttgagg ggctgtccac aggcagaaaa tccagcattt gcaagggttt 2820 ccgcccgttt ttcggccacc gctaacctgt cttttaacct gcttttaaac caatatttat 2880 aaaccttgtt tttaaccagg gctgcgccct gtgcgcgtga ccgcgcacgc cgaagggggg 2940 tgcccccct tctcgaaccc tcccggcccg ctaacgcggg cctcccatcc ccccaggggc 3000 tgcgcccctc ggccgcgaac ggcctcaccc caaaaatggc agcgctggca gtccttgcca 3060 ttgccgggat cggggcagta acgggatggg cgatcagccc gagcgcgacg cccggaagca 3120 ttgacgtgcc gcaggtgctg gcatcgacat tcagcgacca ggtgccgggc agtgagggcg 3180 geggeetggg tggeggeetg ceetteactt eggeegtegg ggeatteaeg gaetteatgg 3240 cggggccggc aattittacc ttgggcattc ttggcatagt ggtcgcgggt gccgtgctcg 3300 tgttcggggg tgcgataaac ccagcgaacc atttgaggtg ataggtaaga ttataccgag 3360 gtatgaaaac gagaattgga cctttacaga attactctat gaagcgccat atttaaaaag 3420 ctaccaagac gaagaggatg aagaggatga ggaggcagat tgccttgaat atattgacaa 3480 tactgataag ataatatatc ttttatatag aagatatcgc cgtatgtaag gatttcaggg 3540

qqcaaggcat aggcagcgcg cttatcaata tatctataga atgggcaaag cataaaaact 3600 tgcatggact aatgcttgaa acccaggaca ataaccttat agcttgtaaa ttctatcata 3660 attgggtaat gactccaact tattgatagt gttttatgtt cagataatgc ccgatgactt 3720 tgtcatgcag ctccaccgat tttgagaacg acagcgactt ccgtcccagc cgtgccaggt 3780 gctgcctcag attcaggtta tgccgctcaa ttcgctgcgt atatcgcttg ctgattacgt 3840 gcagctttcc cttcaggcgg gattcataca gcggccagcc atccgtcatc catatcacca 3900 cgtcaaaggg tgacagcagg ctcataagac gccccagcgt cgccatagtg cgttcaccga 3960 atacgtgcgc aacaaccgtc ttccggagac tgtcatacgc gtaaaacagc cagcgctggc 4020 gcgatttagc cccgacatag ccccactgtt cgtccatttc cgcgcagacg atgacgtcac 4080 tgcccggctg tatgcgcgag gttaccgact gcggcctgag ttttttaagt gacgtaaaat 4140 cgtgttgagg ccaacgccca taatgcgggc tgttgcccgg catccaacgc cattcatggc 4200 catatcaatg attttctggt gcgtaccggg ttgagaagcg gtgtaagtga actgcagttg 4260 ccatgtttta cggcagtgag agcagagata gcgctgatgt ccggcggtgc ttttgccgtt 4320 acgcaccacc ccgtcagtag ctgaacagga gggacagctg atagacacag aagccactgg 4380 agcacctcaa aaacaccatc atacactaaa tcagtaagtt ggcagcatca cccataattg 4440 tggtttcaaa atcggctccg tcgatactat gttatacgcc aactttgaaa acaactttga 4500 aaaagctgtt ttctggtatt taaggtttta gaatgcaagg aacagtgaat tggagttcgt 4560 cttgttataa ttagcttctt ggggtatctt taaatactgt agaaaagagg aaggaaataa 4620 taaatggcta aaatgagaat atcaccggaa ttgaaaaaac tgatcgaaaa ataccgctgc 4680 gtaaaagata cggaaggaat gtctcctgct aaggtatata agctggtggg agaaaatgaa 4740

aacctatatt taaaaatgac ggacagccgg tataaaggga ccacctatga tgtggaacgg 4800 gaaaaggaca tgatgctatg gctggaagga aagctgcctg ttccaaaggt cctgcacttt 4860 gaacggcatg atggctggag caatctgctc atgagtgagg ccgatggcgt cctttgctcg 4920 gaagagtatg aagatgaaca aagccctgaa aagattatcg agctgtatgc ggagtgcatc 4980 aggetettte actecatega catateggat tgteectata egaatagett agacageege 5040 ttagccgaat tggattactt actgaataac gatctggccg atgtggattg cgaaaactgg 5100 gaagaagaca ctccatttaa agatccgcgc gagctgtatg attttttaaa gacggaaaag 5160 cccgaagagg aacttgtctt ttcccacggc gacctgggag acagcaacat ctttgtgaaa 5220 gatggcaaag taagtggctt tattgatctt gggagaagcg gcagggcgga caagtggtat 5280 gacattgcct tctgcgtccg gtcgatcagg gaggatatcg gggaagaaca gtatgtcgag 5340 ctggatgaat tgttttagta cctagatgtg gcgcaacgat gccggcgaca agcaggagcg 5460 caccgacttc ttccgcatca agtgttttgg ctctcaggcc gaggcccacg gcaagtattt 5520 gggcaagggg tcgctggtat tcgtgcaggg caagattcgg aataccaagt acgagaagga 5580 cggccagacg gtctacggga ccgacttcat tgccgataag gtggattatc tggacaccaa 5640 ggcaccaggc gggtcaaatc aggaataagg gcacattgcc ccggcgtgag tcggggcaat 5700 cccgcaagga gggtgaatga atcggacgtt tgaccggaag gcatacaggc aagaactgat 5760 cgacgcgggg ttttccgccg aggatgccga aaccatcgca agccgcaccg tcatgcgtgc 5820 gccccgcgaa accttccagt ccgtcggctc gatggtccag caagctacgg ccaagatcga 5880 gegegacage gtgcaactgg etececetge eetgeeegeg ceateggeeg eegtggageg 5940

ttcgcgtcgt ctcgaacagg aggcggcagg tttggcgaag tcgatgacca tcgacacgcg 6000 aggaactatq acqaccaaga agcgaaaaac cgccggcgag gacctggcaa aacaggtcag 6060 cgaggccaag caggccgcgt tgctgaaaca cacgaagcag cagatcaagg aaatgcagct 6120 ttccttgttc gatattgcgc cgtggccgga cacgatgcga gcgatgccaa acgacacggc 6180 ccgctctgcc ctgttcacca cgcgcaacaa gaaaatcccg cgcgaggcgc tgcaaaacaa 6240 ggtcattttc cacgtcaaca aggacgtgaa gatcacctac accggcgtcg agctgcgggc 6300 cgacgatgac gaactggtgt ggcagcaggt gttggagtac gcgaagcgca cccctatcgg 6360 cgagccgatc accttcacgt tctacgagct ttgccaggac ctgggctggt cgatcaatgg 6420 ccggtattac acgaaggccg aggaatgcct gtcgcgccta caggcgacgg cgatgggctt 6480 cacgtccgac cgcgttgggc acctggaatc ggtgtcgctg ctgcaccgct tccgcgtcct 6540 ggaccgtggc aagaaaacgt cccgttgcca ggtcctgatc gacgaggaaa tcgtcgtgct 6600 gtttgctggc gaccactaca cgaaattcat atgggagaag taccgcaagc tgtcgccgac 6660 ggcccgacgg atgttcgact atttcagctc gcaccgggag ccgtacccgc tcaagctgga 6720 aaccttccgc ctcatgtgcg gatcggattc cacccgcgtg aagaagtggc gcgagcaggt 6780 cggcgaagcc tgcgaagagt tgcgaggcag cggcctggtg gaacacgcct gggtcaatga 6840 tgacctggtg cattgcaaac gctagggcct tgtggggtca gttccggctg ggggttcagc 6900 agccagcgct ttactggcat ttcaggaaca agcgggcact gctcgacgca cttgcttcgc 6960 tcagtatcgc tcgggacgca cggcgcgctc tacgaactgc cgataaacag aggattaaaa 7020 ttgacaattg tgattaaggc tcagattcga cggcttggag cggccgacgt gcaggatttc 7080 cgcgagatcc gattgtcggc cctgaagaaa gctccagaga tgttcgggtc cgtttacgag 7140

cacgaggaga aaaagcccat ggaggcgttc gctgaacggt tgcgagatgc cgtggcattc 7200 qqcqcctaca tcqacqqcqa gatcattqqq ctqtcqqtct tcaaacaqqa qqacqcccc 7260 aaggacgctc acaaggcgca tctgtccggc gttttcgtgg agcccgaaca gcgaggccga 7320 aggqtcgccg gtatgctgct gcgggcgttg ccggcgggtt tattgctcgt gatgatcgtc 7380 cgacagattc caacgggaat ctggtggatg cgcatcttca tcctcggcgc acttaatatt 7440 tegetattet ggagettgtt gtttattteg gtetacegee tgeegggegg ggtegeggeg 7500 acggtaggcg ctgtgcagcc gctgatggtc gtgttcatct ctgccgctct gctaggtagc 7560 ccgatacgat tgatggcggt cctgggggct atttgcggaa ctgcgggcgt ggcgctgttg 7620 gtgttgacac caaacgcagc gctagatcct gtcggcgtcg cagcgggcct ggcgggggcg 7680 gtttccatgg cgttcggaac cgtgctgacc cgcaagtggc aacctcccgt gcctctgctc 7740 acctttaccg cctggcaact ggcggccgga ggacttctgc tcgttccagt agctttagtg 7800 tttgatccgc caatcccgat gcctacagga accaatgttc tcggcctggc gtggctcggc 7860 ctgatcggag cgggtttaac ctacttcctt tggttccggg ggatctcgcg actcgaacct 7920 acagttgttt ccttactggg ctttctcagc cccagatctg gggtcgatca gccggggatg 7980 catcaggccg acagtcggaa cttcgggtcc ccgacctgta ccattcggtg agcaatggat 8040 aggggagttg atatcgtcaa cgttcacttc taaagaaata gcgccactca gcttcctcag 8100 cggctttatc cagcgatttc ctattatgtc ggcatagttc tcaagatcga cagcctgtca 8160 cggttaagcg agaaatgaat aagaaggctg ataattcgga tctctgcgag ggagatgata 8220 tttgatcaca ggcagcaacg ctctgtcatc gttacaatca acatgctacc ctccgcgaga 8280 tcatccgtgt ttcaaacccg gcagcttagt tgccgttctt ccgaatagca tcggtaacat 8340

gagcaaagtc tgccgcctta caacggctct cccgctgacg ccgtcccgga ctgatgggct 8400 gcctgtatcg agtggtgatt ttgtgccgag ctgccggtcg gggagctgtt ggctggctgg 8460 tggcaggata tattgtggtg taaacaaatt gacgcttaga caacttaata acacattgcg 8520 gacgttttta atgtactggg gtggtttttc ttttcaccag tgagacgggc aacagctgat 8580 tgcccttcac cgcctggccc tgagagagtt gcagcaagcg gtccacgctg gtttgcccca 8640 gcaggcgaaa atcctgtttg atggtggttc cgaaatcggc aaaatccctt ataaatcaaa 8700 agaatagccc gagatagggt tgagtgttgt tccagtttgg aacaagagtc cactattaaa 8760 gaacgtggac tecaaegtea aagggegaaa aacegtetat cagggegatg geceaetaeg 8820 tgaaccatca cccaaatcaa gttttttggg gtcgaggtgc cgtaaagcac taaatcggaa 8880 ccctaaaggg agcccccgat ttagagcttg acggggaaag ccggcgaacg tggcgagaaa 8940 qqaaqqqaaq aaagcgaaag gagcgggcgc cattcaggct gcgcaactgt tgggaagggc 9000 gateggtgeg ggcctcttcg ctattacgcc agctggcgaa aggggggatgt gctgcaaggc 9060 gattaagttg ggtaacgcca gggttttccc agtcacgacg ttgtaaaacg acggccagtg 9120 aattaattcc catcttgaaa gaaatatagt ttaaatattt attgataaaa taacaagtca 9180 ggtattatag tocaagcaaa aacataaatt tattgatgca agtttaaatt cagaaatatt 9240 tcaataactg attatatcag ctggtacatt gccgtagatg aaagactgag tgcgatatta 9300 tgtgtaatac ataaattgat gatatagcta gcttagctca tcggggggatc cgtcgaagct 9360 agcttgggtc ccgctcagaa gaactcgtca agaaggcgat agaaggcgat gcgctgcgaa 9420 tcgggagcgg cgataccgta aagcacgagg aagcggtcag cccattcgcc gccaagctct 9480 tcagcaatat cacgggtage caacgctatg tcctgatage ggtccgccac acccagccgg 9540

ccacagtcga tgaatccaga aaagcggcca ttttccacca tgatattcgg caagcaggca 9600 tegecatggg teaegaegag atectegeeg tegggeatge gegeettgag cetggegaae 9660 agttcggctg gcgcgagccc ctgatgctct tcgtccagat catcctgatc gacaagaccg 9720 gcttccatcc gagtacgtgc tegctcgatg egatgtttcg cttggtggtc gaatgggcag 9780 gtagccggat caagcgtatg cagccgccgc attgcatcag ccatgatgga tactttctcg 9840 gcaggagcaa ggtgagatga caggagatcc tgccccggca cttcgcccaa tagcagccag 9900 tecetteeeg etteagtgae aaegtegage acagetgege aaggaaegee egtegtggee 9960 agccacgata gccgcgctgc ctcgtcctgc agttcattca gggcaccgga caggtcggtc 10020 ttgacaaaaa gaaccgggcg cccctgcgct gacagccgga acacggcggc atcagagcag 10080 ccgattgtct gttgtgccca gtcatagccg aatagcctct ccacccaagc ggccggagaa 10140 cctgcgtgca atccatcttg ttcaatccaa gctcccatgg gccctcgact agagtcgaga 10200 tctggattga gagtgaatat gagactctaa ttggataccg aggggaattt atggaacgtc 10260 agtggagcat ttttgacaag aaatatttgc tagctgatag tgaccttagg cgacttttga 10320 acgcgcaata atggtttctg acgtatgtgc ttagctcatt aaactccaga aacccgcggc 10380 tgagtggctc cttcaacgtt gcggttctgt cagttccaaa cgtaaaacgg cttgtcccgc 10440 gtcatcggcg ggggtcataa cgtgactccc ttaattctcc gctcatgatc ttgatcccct 10500 gegecateag atcettggeg geaagaaage cateeagttt aetttgeagg getteecaac 10560 cttaccagag ggcgccccag ctggcaattc cggttcgctt gctgtccata aaaccgccca 10620 gtctagctat cgccatgtaa gcccactgca agctacctgc tttctctttg cgcttgcgtt 10680 ttcccttgtc cagatagccc agtagctgac attcatccgg ggtcagcacc gtttctgcgg 10740

actggctttc tacgtgttcc gcttccttta gcagcccttg cgccctgagt gcttgcggca 10800 gcgtgaagct tgcatgcctg caggtcgacg gcgcgccgag ctcctcgagc aaatttacac 10860 attgccacta aacgtctaaa cccttgtaat ttgtttttgt tttactatgt gtgttatgta 10920 tttgatttgc gataaatttt tatatttggt actaaattta taacaccttt tatgctaacg 10980 tttgccaaca cttagcaatt tgcaagttga ttaattgatt ctaaattatt tttgtcttct 11040 aaatacatat actaatcaac tggaaatgta aatatttgct aatatttcta ctataggaga 11100 attaaagtga gtgaatatgg taccacaagg tttggagatt taattgttgc aatgctgcat 11160 ggatggcata tacaccaaac attcaataat tcttgaggat aataatggta ccacacaaga 11220 tttgaggtgc atgaacgtca cgtggacaaa aggtttagta atttttcaag acaacaatgt 11280 taccacaca aagttttgag gtgcatgcat ggatgccctg tggaaagttt aaaaatattt 11340 tggaaatgat ttgcatggaa gccatgtgta aaaccatgac atccacttgg aggatgcaat 11400 aatgaagaaa actacaaatt tacatgcaac tagttatgca tgtagtctat ataatgagga 11460 ttttgcaata ctttcattca tacacactca ctaagtttta cacgattata atttcttcat 11520 agccagccca ccgcggtggg cggccgcctg cagtctagaa ggcctcctgc tttaatgaga 11580 tatgcgagac gcctatgatc gcatgatatt tgctttcaat tctgttgtgc acgttgtaaa 11640 aaacctgagc atgtgtagct cagatcctta ccgccggttt cggttcattc taatgaatat 11700 atcacccgtt actatcgtat ttttatgaat aatattctcc gttcaattta ctgattgtcc 11760 gtcgagcaaa tttacacatt gccactaaac gtctaaaccc ttgtaatttg tttttgtttt 11820 actatgtgtg ttatgtattt gatttgcgat aaatttttat atttggtact aaatttataa 11880 caccttttat gctaacgttt gccaacactt agcaatttgc aagttgatta attgattcta 11940

aattattttt gtcttctaaa tacatatact aatcaactgg aaatgtaaat atttgctaat 12000 atttctacta taggagaatt aaagtgagtg aatatggtac cacaaggttt ggagatttaa 12060 ttqttqcaat gctgcatgga tggcatatac accaaacatt caataattct tgaggataat 12120 aatggtacca cacaagattt gaggtgcatg aacgtcacgt ggacaaaagg tttagtaatt 12180 tttcaagaca acaatgttac cacacacaag ttttgaggtg catgcatgga tgccctgtgg 12240 aaagtttaaa aatattttgg aaatgatttg catggaagcc atgtgtaaaa ccatgacatc 12300 cacttggagg atgcaataat gaagaaaact acaaatttac atgcaactag ttatgcatgt 12360 agtctatata atgaggattt tgcaatactt tcattcatac acactcacta agttttacac 12420 gattataatt tetteatage eageggatee gatateggge eegetagegt taaccetget 12480 ttaatgagat atgcgagacg cctatgatcg catgatattt gctttcaatt ctgttgtgca 12540 cgttgtaaaa aacctgagca tgtgtagctc agatccttac cgccggtttc ggttcattct 12600 aatgaatata tcacccgtta ctatcgtatt tttatgaata atattctccg ttcaatttac 12660 tgattgtccg tcgacgaatt cgagctcggc gcgcctctag aggatcgatg aattcagatc 12720 ggctgagtgg ctccttcaac gttgcggttc tgtcagttcc aaacgtaaaa cggcttgtcc 12780 cgcgtcatcg gcgggggtca taacgtgact cccttaattc tccgctcatg atcagattgt 12840 cgtttcccgc cttcagttta aactatcagt gtttgacagg atatattggc gggtaaacct 12900 aagagaaaag agcgtttatt agaataatcg gatatttaaa agggcgtgaa aaggtttatc 12960 13002 cttcgtccat ttgtatgtgc atgccaacca cagggttccc ca

<210> 42

<211> 13905

<212> DNA

<213> Unknown

<220>

<223> pflanzlicher Expressionsvektor mit drei Promotor-Terminator-Expressionskassetten

<400> 42 gatctggcgc cggccagcga gacgagcaag attggccgcc gcccgaaacg atccgacagc 60 gcgcccagca caggtgcgca ggcaaattgc accaacgcat acagcgccag cagaatgcca 120 tagtgggcgg tgacgtcgtt cgagtgaacc agatcgcgca ggaggcccgg cagcaccggc 180 ataatcaggc cgatgccgac agcgtcgagc gcgacagtgc tcagaattac gatcaggggt 240 atgttgggtt tcacgtctgg cctccggacc agcctccgct ggtccgattg aacgcgcgga 300 ttctttatca ctgataagtt ggtggacata ttatgtttat cagtgataaa gtgtcaagca 360 tgacaaagtt gcagccgaat acagtgatcc gtgccgccct ggacctgttg aacgaggtcg 420 gcgtagacgg tctgacgaca cgcaaactgg cggaacggtt gggggttcag cagccggcgc 480 tttactggca cttcaggaac aagcgggcgc tgctcgacgc actggccgaa gccatgctgg 540 eggagaatea taegeatteg gtgeegagag eegaegaega etggegetea tttetgateg 600 ggaatgcccg cagcttcagg caggcgctgc tcgcctaccg cgatggcgcg cgcatccatg 660 ccggcacgcg accgggcgca ccgcagatgg aaacggccga cgcgcagctt cgcttcctct 720 gcgaggcggg tttttcggcc ggggacgccg tcaatgcgct gatgacaatc agctacttca 780 ctgttggggc cgtgcttgag gagcaggccg gcgacagcga tgccggcgag cgcggcggca 840 ccgttgaaca ggctccgctc tcgccgctgt tgcgggccgc gatagacgcc ttcgacgaag 900 ccggtccgga cgcagcgttc gagcagggac tcgcggtgat tgtcgatgga ttggcgaaaa 960 ggaggctcgt tgtcaggaac gttgaaggac cgagaaaggg tgacgattga tcaggaccgc 1020

tgccggagcg caacccactc actacagcag agccatgtag acaacatccc ctccccttt 1080 ccaccgcgtc agacgcccgt agcagcccgc tacgggcttt ttcatgccct gccctagcgt 1140 ccaagectca eggeegett eggeetetet ggeggeette tggegetett ecgetteete 1200 gctcactgac tcgctgcgct cggtcgttcg gctgcggcga gcggtatcag ctcactcaaa 1260 qqcqqtaata cggttatcca cagaatcagg ggataacgca ggaaagaaca tgtgagcaaa 1320 aggccagcaa aaggccagga accgtaaaaa ggccgcgttg ctggcgtttt tccataggct 1380 ccgccccct gacgagcatc acaaaaatcg acgctcaagt cagaggtggc gaaacccgac 1440 aggactataa agataccagg cgtttccccc tggaagetee etegtgeget eteetgttee 1500 gaccetgeeg ettaceggat acetgteege ettteteeet tegggaageg tggegetttt 1560 ccgctgcata accetgcttc ggggtcatta tagcgatttt ttcggtatat ccatcctttt 1620 tcgcacgata tacaggattt tgccaaaggg ttcgtgtaga ctttccttgg tgtatccaac 1680 ggcgtcagcc gggcaggata ggtgaagtag gcccacccgc gagcgggtgt tccttcttca 1740 ctgtccctta ttcgcacctg gcggtgctca acgggaatcc tgctctgcga ggctggccgg 1800 ctaccgccgg cgtaacagat gagggcaagc ggatggctga tgaaaccaag ccaaccagga 1860 agggcagccc acctatcaag gtgtactgcc ttccagacga acgaagagcg attgaggaaa 1920 aggeggegge ggeeggeatg ageetgtegg cetacetget ggeegtegge cagggetaca 1980 aaatcacggg cgtcgtggac tatgagcacg tccgcgagct ggcccgcatc aatggcgacc 2040 tgggccgcct gggcggcctg ctgaaactct ggctcaccga cgacccgcgc acggcgcggt 2100 teggtgatge caegateete geeetgetgg egaagatega agagaageag gaegagettg 2160 gcaaggtcat gatgggcgtg gtccgcccga gggcagagcc atgacttttt tagccgctaa 2220

aacggccggg gggtgcgcgt gattgccaag cacgtcccca tgcgctccat caagaagagc 2280 gacttegegg agetggtgaa gtacateace gacgageaag geaagacega gegeetttge 2340 gacgeteace gggetggttg ecetegeege tgggetggeg geegtetatg geeetgeaaa 2400 cgcgccagaa acgccgtcga agccgtgtgc gagacaccgc ggccgccggc gttgtggata 2460 cctcgcggaa aacttggccc tcactgacag atgaggggcg gacgttgaca cttgaggggc 2520 cgactcaccc ggcgcggcgt tgacagatga ggggcaggct cgatttcggc cggcgacgtg 2580 gagctggcca gcctcgcaaa tcggcgaaaa cgcctgattt tacgcgagtt tcccacagat 2640 gatgtggaca agcctgggga taagtgccct gcggtattga cacttgaggg gcgcgactac 2700 tgacagatga ggggcgcgat cettgacaet tgaggggcag agtgetgaca gatgagggge 2760 gcacctattg acatttgagg ggctgtccac aggcagaaaa tccagcattt gcaagggttt 2820 ccgcccgttt ttcggccacc gctaacctgt cttttaacct gcttttaaac caatatttat 2880 aaaccttgtt tttaaccagg gctgcgccct gtgcgcgtga ccgcgcacgc cgaagggggg 2940 tgcccccct tctcgaaccc tcccggcccg ctaacgcggg cctcccatcc ccccaggggc 3000 tgcgcccctc ggccgcgaac ggcctcaccc caaaaatggc agcgctggca gtccttgcca 3060 ttgccgggat cggggcagta acgggatggg cgatcagccc gagcgcgacg cccggaagca 3120 ttgacgtgcc gcaggtgctg gcatcgacat tcagcgacca ggtgccgggc agtgagggcg 3180 geggeetggg tggeggeetg ecetteactt eggeegtegg ggeatteacg gaetteatgg 3240 cggggccggc aatttttacc ttgggcattc ttggcatagt ggtcgcgggt gccgtgctcg 3300 tgttcggggg tgcgataaac ccagcgaacc atttgaggtg ataggtaaga ttataccgag 3360 gtatgaaaac gagaattgga cctttacaga attactctat gaagcgccat atttaaaaag 3420

ctaccaagac gaagaggatg aagaggatga ggaggcagat tgccttgaat atattgacaa 3480 tactgataag ataatatatc ttttatatag aagatatcgc cgtatgtaag gatttcaggg 3540 ggcaaggcat aggcagcgcg cttatcaata tatctataga atgggcaaag cataaaaact 3600 tgcatggact aatgcttgaa acccaggaca ataaccttat agcttgtaaa ttctatcata 3660 attgggtaat gactccaact tattgatagt gttttatgtt cagataatgc ccgatgactt 3720 tgtcatgcag ctccaccgat tttgagaacg acagcgactt ccgtcccagc cgtgccaggt 3780 gctgcctcag attcaggtta tgccgctcaa ttcgctgcgt atatcgcttg ctgattacgt 3840 gcagctttcc cttcaggcgg gattcataca gcggccagcc atccgtcatc catatcacca 3900 cgtcaaaggg tgacagcagg ctcataagac gccccagcgt cgccatagtg cgttcaccga 3960 atacgtgcgc aacaaccgtc ttccggagac tgtcatacgc gtaaaacagc cagcgctggc 4020 gcgatttagc cccgacatag ccccactgtt cgtccatttc cgcgcagacg atgacgtcac 4080 tgcccggctg tatgcgcgag gttaccgact gcggcctgag ttttttaagt gacgtaaaat 4140 cgtgttgagg ccaacgccca taatgcgggc tgttgcccgg catccaacgc cattcatggc 4200 catatcaatg attitctggt gcgtaccggg ttgagaagcg gtgtaagtga actgcagttg 4260 ccatgtttta cggcagtgag agcagagata gcgctgatgt ccggcggtgc ttttgccgtt 4320 acgcaccacc ccgtcagtag ctgaacagga gggacagctg atagacacag aagccactgg 4380 agcacctcaa aaacaccatc atacactaaa tcagtaagtt ggcagcatca cccataattg 4440 tggtttcaaa atcggctccg tcgatactat gttatacgcc aactttgaaa acaactttga 4500 aaaagctgtt ttctggtatt taaggtttta gaatgcaagg aacagtgaat tggagttcgt 4560 cttgttataa ttagcttctt ggggtatctt taaatactgt agaaaagagg aaggaaataa 4620

taaatggcta aaatgagaat atcaccggaa ttgaaaaaac tgatcgaaaa ataccgctgc 4680 gtaaaagata cggaaggaat gtctcctgct aaggtatata agctggtggg agaaaatgaa 4740 aacctatatt taaaaatgac ggacagccgg tataaaggga ccacctatga tgtggaacgg 4800 gaaaaggaca tgatgctatg gctggaagga aagctgcctg ttccaaaggt cctgcacttt 4860 gaacggcatg atggctggag caatctgctc atgagtgagg ccgatggcgt cctttgctcg 4920 gaagagtatg aagatgaaca aagccctgaa aagattatcg agctgtatgc ggagtgcatc 4980 aggetettte aetecatega catateggat tgteeetata egaatagett agacageege 5040 ttagccgaat tggattactt actgaataac gatctggccg atgtggattg cgaaaactgg 5100 gaagaagaca ctccatttaa agatccgcgc gagctgtatg atttttaaa gacggaaaag 5160 cccgaagagg aacttgtctt ttcccacggc gacctgggag acagcaacat ctttgtgaaa 5220 gatggcaaag taagtggctt tattgatctt gggagaagcg gcagggcgga caagtggtat 5280 gacattgcct tctgcgtccg gtcgatcagg gaggatatcg gggaagaaca gtatgtcgag 5340 ctggatgaat tgttttagta cctagatgtg gcgcaacgat gccggcgaca agcaggagcg 5460 caccgacttc ttccgcatca agtgttttgg ctctcaggcc gaggcccacg gcaagtattt 5520 gggcaagggg tcgctggtat tcgtgcaggg caagattcgg aataccaagt acgagaagga 5580 cggccagacg gtctacggga ccgacttcat tgccgataag gtggattatc tggacaccaa 5640 ggcaccaggc gggtcaaatc aggaataagg gcacattgcc ccggcgtgag tcggggcaat 5700 cccgcaagga gggtgaatga atcggacgtt tgaccggaag gcatacaggc aagaactgat 5760 cgacgcgggg ttttccgccg aggatgccga aaccatcgca agccgcaccg tcatgcgtgc 5820

gccccgcgaa accttccagt ccgtcggctc gatggtccag caagctacgg ccaagatcga 5880 gcgcgacagc gtgcaactgg ctccccctgc cctgcccgcg ccatcggccg ccgtggagcg 5940 ttcgcgtcgt ctcgaacagg aggcggcagg tttggcgaag tcgatgacca tcgacacgcg 6000 aggaactatg acgaccaaga agcgaaaaac cgccggcgag gacctggcaa aacaggtcag 6060 cgaggccaag caggccgcgt tgctgaaaca cacgaagcag cagatcaagg aaatgcagct 6120 ttccttgttc gatattgcgc cgtggccgga cacgatgcga gcgatgccaa acgacacggc 6180 ccgctctgcc ctgttcacca cgcgcaacaa gaaaatcccg cgcgaggcgc tgcaaaacaa 6240 ggtcattttc cacgtcaaca aggacgtgaa gatcacctac accggcgtcg agctgcgggc 6300 cgacgatgac gaactggtgt ggcagcaggt gttggagtac gcgaagcgca cccctatcgg 6360 cgagccgatc accttcacgt tctacgagct ttgccaggac ctgggctggt cgatcaatgg 6420 ccggtattac acgaaggccg aggaatgcct gtcgcgccta caggcgacgg cgatgggctt 6480 cacgtccgac cgcgttgggc acctggaatc ggtgtcgctg ctgcaccgct tccgcgtcct 6540 ggaccgtggc aagaaaacgt cccgttgcca ggtcctgatc gacgaggaaa tcgtcgtgct 6600 gtttgctggc gaccactaca cgaaattcat atgggagaag taccgcaagc tgtcgccgac 6660 ggcccgacgg atgttcgact atttcagctc gcaccgggag ccgtacccgc tcaagctgga 6720 aaccttccgc ctcatgtgcg gatcggattc cacccgcgtg aagaagtggc gcgagcaggt 6780 cggcgaagcc tgcgaagagt tgcgaggcag cggcctggtg gaacacgcct gggtcaatga 6840 tgacctggtg cattgcaaac gctagggcct tgtggggtca gttccggctg ggggttcagc 6900 agccagcgct ttactggcat ttcaggaaca agcgggcact gctcgacgca cttgcttcgc 6960 tcagtatcgc tcgggacgca cggcgcgctc tacgaactgc cgataaacag aggattaaaa 7020

ttgacaattg tgattaaggc tcagattcga cggcttggag cggccgacgt gcaggatttc 7080 cgcgagatcc gattgtcggc cctgaagaaa gctccagaga tgttcgggtc cgtttacgag 7140 cacgaggaga aaaagcccat ggaggcgttc gctgaacggt tgcgagatgc cgtggcattc 7200 ggcgcctaca tcgacggcga gatcattggg ctgtcggtct tcaaacagga ggacggcccc 7260 aaggacgete acaaggegea tetgteegge gttttegtgg ageeegaaca gegaggeega 7320 ggggtcgccg gtatgctgct gcgggcgttg ccggcgggtt tattgctcgt gatgatcgtc 7380 cgacagattc caacgggaat ctggtggatg cgcatcttca tcctcggcgc acttaatatt 7440 tegetattet ggagettgtt gtttattteg gtetaeegee tgeegggegg ggtegeggeg 7500 acggtaggcg ctgtgcagcc gctgatggtc gtgttcatct ctgccgctct gctaggtagc 7560 ccgatacgat tgatggcggt cctgggggct atttgcggaa ctgcgggcgt ggcgctgttg 7620 gtgttgacac caaacgcagc gctagatcct gtcggcgtcg cagcggggcct ggcgggggcg 7680 gtttccatgg cgttcggaac cgtgctgacc cgcaagtggc aacctcccgt gcctctgctc 7740 acctttaccg cctggcaact ggcggccgga ggacttctgc tcgttccagt agctttagtg 7800 tttgatccgc caatcccgat gcctacagga accaatgttc tcggcctggc gtggctcggc 7.860 ctgatcggag cgggtttaac ctacttcctt tggttccggg ggatctcgcg actcgaacct 7920 acagttgttt cettactggg ettteteage eccagatetg gggtegatea geeggggatg 7980 catcaggeeg acagteggaa ettegggtee eegaeetgta eeatteggtg ageaatggat 8040 aggggagttg atatcgtcaa cgttcacttc taaagaaata gcgccactca gcttcctcag 8100 eggetttate eagegattte etattatgte ggeatagtte teaagatega eageetgtea 8160 cggttaagcg agaaatgaat aagaaggctg ataattcgga tctctgcgag ggagatgata 8220

tttgatcaca ggcagcaacg ctctgtcatc gttacaatca acatgctacc ctccgcgaga 8280 tcatccgtgt ttcaaacccg gcagcttagt tgccgttctt ccgaatagca tcggtaacat 8340 gagcaaagte tgccgcetta caacggetet ceegetgacg cegtecegga etgatggget 8400 gcctgtatcg agtggtgatt ttgtgccgag ctgccggtcg gggagctgtt ggctggctgg 8460 tggcaggata tattgtggtg taaacaaatt gacgcttaga caacttaata acacattgcg 8520 gacgttttta atgtactggg gtggtttttc ttttcaccag tgagacgggc aacagctgat 8580 tgcccttcac cgcctggccc tgagagagtt gcagcaagcg gtccacgctg gtttgcccca 8640 gcaggcgaaa atcctgtttg atggtggttc cgaaatcggc aaaatccctt ataaatcaaa 8700 agaatagccc gagatagggt tgagtgttgt tccagtttgg aacaagagtc cactattaaa 8760 gaacgtggac tccaacgtca aagggcgaaa aaccgtctat cagggcgatg gcccactacg 8820 tgaaccatca cccaaatcaa gttttttggg gtcgaggtgc cgtaaagcac taaatcggaa 8880 ccctaaaggg agcccccgat ttagagcttg acggggaaag ccggcgaacg tggcgagaaa 8940 ggaagggaag aaagcgaaag gagcgggcgc cattcaggct gcgcaactgt tgggaagggc 9000 gateggtgeg ggeetetteg etattacgee agetggegaa agggggatgt getgeaagge 9060 gattaagttg ggtaacgcca gggttttccc agtcacgacg ttgtaaaacg acggccagtg 9120 aattaattcc catcttgaaa gaaatatagt ttaaatattt attgataaaa taacaagtca 9180 ggtattatag tccaagcaaa aacataaatt tattgatgca agtttaaatt cagaaatatt 9240 tcaataactg attatatcag ctggtacatt gccgtagatg aaagactgag tgcgatatta 9300 tgtgtaatac ataaattgat gatatagcta gcttagctca tcgggggatc cgtcgaagct 9360 agcttgggtc ccgctcagaa gaactcgtca agaaggcgat agaaggcgat gcgctgcgaa 9420

tegggagegg egatacegta aageaegagg aageggteag eecattegee geeaagetet 9480 tcagcaatat cacgggtagc caacgctatg tcctgatagc ggtccgccac acccagccgg 9540 ccacagtcga tgaatccaga aaagcggcca ttttccacca tgatattcgg caagcaggca 9600 tegecatggg teaegacgag atectegeeg tegggeatge gegeettgag cetggegaac 9660 agtteggetg gegegageee etgatgetet tegtecagat cateetgate gacaagaeeg 9720 gcttccatcc gagtacgtgc tcgctcgatg cgatgtttcg cttggtggtc gaatgggcag 9780 gtagccggat caagcgtatg cagccgccgc attgcatcag ccatgatgga tactttctcg 9840 gcaggagcaa ggtgagatga caggagatcc tgccccggca cttcgcccaa tagcagccag 9900 tecetteeeg etteagtgae aaegtegage aeagetgege aaggaaegee egtegtggee 9960 agccacgata geogegetge etegteetge agtteattea gggcacegga caggteggte 10020 ttgacaaaaa gaaccgggcg cccctgcgct gacagccgga acacggcggc atcagagcag 10080 ccgattgtct gttgtgccca gtcatagccg aatagcctct ccacccaagc ggccggagaa 10140 cctgcgtgca atccatcttg ttcaatccaa gctcccatgg gccctcgact agagtcgaga 10200 tctggattga gagtgaatat gagactctaa ttggataccg aggggaattt atggaacgtc 10260 agtggagcat ttttgacaag aaatatttgc tagctgatag tgaccttagg cgacttttga 10320 acgcgcaata atggtttctg acgtatgtgc ttagctcatt aaactccaga aacccgcggc 10380 tgagtggctc cttcaacgtt gcggttctgt cagttccaaa cgtaaaacgg cttgtcccgc 10440 gtcatcggcg ggggtcataa cgtgactccc ttaattctcc gctcatgatc ttgatcccct 10500 gcgccatcag atccttggcg gcaagaaagc catccagttt actttgcagg gcttcccaac 10560 cttaccagag ggcgcccag ctggcaattc cggttcgctt gctgtccata aaaccgccca 10620

gtctagctat cgccatgtaa gcccactgca agctacctgc tttctctttg cgcttgcgtt 10680 ttcccttgtc cagatagccc agtagctgac attcatccgg ggtcagcacc gtttctgcgg 10740 actggctttc tacgtgttcc gcttccttta gcagcccttg cgccctgagt gcttgcggca 10800 gcgtgaagct tgcatgcctg caggtcgacg gcgcgccgag ctcctcgagc aaatttacac 10860 attgccacta aacgtctaaa cccttgtaat ttgtttttgt tttactatgt gtgttatgta 10920 tttgatttgc gataaatttt tatatttggt actaaattta taacaccttt tatgctaacg 10980 tttgccaaca cttagcaatt tgcaagttga ttaattgatt ctaaattatt tttgtcttct 11040 aaatacatat actaatcaac tggaaatgta aatatttgct aatatttcta ctataggaga 11100 attaaagtga gtgaatatgg taccacaagg tttggagatt taattgttgc aatgctgcat 11160 ggatggcata tacaccaaac attcaataat tcttgaggat aataatggta ccacacaaga 11220 tttgaggtgc atgaacgtca cgtggacaaa aggtttagta atttttcaag acaacaatgt 11280 taccacacac aagttttgag gtgcatgcat ggatgccctg tggaaagttt aaaaatattt 11340 tggaaatgat ttgcatggaa gccatgtgta aaaccatgac atccacttgg aggatgcaat 11400 aatgaagaaa actacaaatt tacatgcaac tagttatgca tgtagtctat ataatgagga 11460 ttttgcaata ctttcattca tacacactca ctaagtttta cacgattata atttcttcat 11520 agccagccca ccgcggtggg cggccgcctg cagtctagaa ggcctcctgc tttaatgaga 11580 tatgcgagac gcctatgatc gcatgatatt tgctttcaat tctgttgtgc acgttgtaaa 11640 aaacctgagc atgtgtagct cagatcctta ccgccggttt cggttcattc taatgaatat 11700 atcacccgtt actatcgtat ttttatgaat aatattctcc gttcaattta ctgattgtcc 11760 gtcgagcaaa tttacacatt gccactaaac gtctaaaccc ttgtaatttg tttttgtttt 11820 actatgtgtg ttatgtattt gatttgcgat aaatttttat atttggtact aaatttataa 11880 caccttttat gctaacgttt gccaacactt agcaatttgc aagttgatta attgattcta 11940 aattattttt gtcttctaaa tacatatact aatcaactgg aaatgtaaat atttgctaat 12000 atttctacta taggagaatt aaagtgagtg aatatggtac cacaaggttt ggagatttaa 12060 ttgttgcaat gctgcatgga tggcatatac accaaacatt caataattct tgaggataat 12120 aatggtacca cacaagattt gaggtgcatg aacgtcacgt ggacaaaagg tttagtaatt 12180 tttcaagaca acaatgttac cacacaaag ttttgaggtg catgcatgga tgccctgtgg 12240 aaagtttaaa aatattttgg aaatgatttg catggaagcc atgtgtaaaa ccatgacatc 12300 cacttggagg atgcaataat gaagaaaact acaaatttac atgcaactag ttatgcatgt 12360 agtctatata atgaggattt tgcaatactt tcattcatac acactcacta agttttacac 12420 gattataatt tetteatage eageggatee gatateggge eegetagegt taaceetget 12480 ttaatgagat atgcgagacg cctatgatcg catgatattt gctttcaatt ctgttgtgca 12540 cgttgtaaaa aacctgagca tgtgtagctc agatccttac cgccggtttc ggttcattct 12600 aatgaatata tcacccgtta ctatcgtatt tttatgaata atattctccg ttcaatttac 12660 tgattgtccg tcgagcaaat ttacacattg ccactaaacg tctaaaccct tgtaatttgt 12720 ttttgtttta ctatgtgtgt tatgtatttg atttgcgata aatttttata tttggtacta 12780 aatttataac accttttatg ctaacgtttg ccaacactta gcaatttgca agttgattaa 12840 ttgattctaa attatttttg tcttctaaat acatatacta atcaactgga aatgtaaata 12900 tttgctaata tttctactat aggagaatta aagtgagtga atatggtacc acaaggtttg 12960 gagatttaat tgttgcaatg ctgcatggat ggcatataca ccaaacattc aataattctt 13020

gaggataata atggtaccac acaagatttg aggtgcatga acgtcacgtg gacaaaaggt 13080 ttagtaattt ttcaagacaa caatgttacc acacacaagt tttgaggtgc atgcatggat 13140 gccctgtgga aagtttaaaa atattttgga aatgatttgc atggaagcca tgtgtaaaac 13200 catgacatcc acttggagga tgcaataatg aagaaaacta caaatttaca tgcaactagt 13260 tatgcatgta gtctatataa tgaggatttt gcaatacttt cattcataca cactcactaa 13320 gttttacacg attataattt cttcatagcc agcagatctg ccggcatcga tcccgggcca 13380 tggcctgctt taatgagata tgcgagacgc ctatgatcgc atgatatttg ctttcaattc 13440 tgttgtgcac gttgtaaaaa acctgagcat gtgtagctca gatccttacc gccggtttcg 13500 qttcattcta atgaatatat cacccgttac tatcgtattt ttatgaataa tattctccgt 13560 tcaatttact gattgtccgt cgacgagctc ggcgcgcctc tagaggatcg atgaattcag 13620 atoggotgag tggotcotto aacgttgogg ttotgtcagt tocaaacgta aaacggottg 13680 tecegegtea teggeggggg teataacgtg acteeettaa tteteegete atgateagat 13740 tgtcgtttcc cgccttcagt ttaaactatc agtgtttgac aggatatatt ggcgggtaaa 13800 cctaagagaa aagagcgttt attagaataa tcggatattt aaaagggcgt gaaaaggttt 13860 atccttcgtc catttgtatg tgcatgccaa ccacagggtt cccca 13905

<210> 43

<211> 15430

<212> DNA

<213> Unknown

<220>

<223> pflanz. Expressionsvektor mit zwei Promotor-Terminator-Expressionskassetten inseriert ist

Physcomitrella patens Elongase und Desaturase

<220>

<221> CDS

<222> (11543)..(12415)

<220>

<221> CDS

<222> (13313)..(14890)

<400> 43 gatctggcgc cggccagcga gacgagcaag attggccgcc gcccgaaacg atccgacagc 60 gcgcccagca caggtgcgca ggcaaattgc accaacgcat acagcgccag cagaatgcca 120 tagtgggcgg tgacgtcgtt cgagtgaacc agatcgcgca ggaggcccgg cagcaccggc 180 ataatcaggc cgatgccgac agcgtcgagc gcgacagtgc tcagaattac gatcaggggt 240 atgttgggtt tcacgtctgg cctccggacc agcctccgct ggtccgattg aacgcgcgga 300 ttctttatca ctgataagtt ggtggacata ttatgtttat cagtgataaa gtgtcaagca 360 tgacaaagtt gcagccgaat acagtgatcc gtgccgccct ggacctgttg aacgaggtcg 420 gcgtagacgg tctgacgaca cgcaaactgg cggaacggtt gggggttcag cagccggcgc 480 tttactggca cttcaggaac aagcgggcgc tgctcgacgc actggccgaa gccatgctgg 540 cggagaatca tacgcattcg gtgccgagag ccgacgacga ctggcgctca tttctgatcg 600 ggaatgcccg cagcttcagg caggcgctgc tcgcctaccg cgatggcgcg cgcatccatg 660 ccggcacgcg accgggcgca ccgcagatgg aaacggccga cgcgcagctt cgcttcctct 720 gcgaggcggg tttttcggcc ggggacgccg tcaatgcgct gatgacaatc agctacttca 780 ctgttggggc cgtgcttgag gagcaggccg gcgacagcga tgccggcgag cgcggcggca 840 ccgttgaaca ggctccgctc tcgccgctgt tgcgggccgc gatagacgcc ttcgacgaag 900

ccggtccgga cgcagcgttc gagcagggac tcgcggtgat tgtcgatgga ttggcgaaaa 960 ggaggetegt tgteaggaac gttgaaggac egagaaaggg tgaegattga teaggaeege 1020 tgccggagcg caacccactc actacagcag agccatgtag acaacatccc ctcccccttt 1080 ccaccgcgtc agacgcccgt agcagcccgc tacgggcttt ttcatgccct gccctagcgt 1140 ccaagcetea eggeeget eggeetetet ggeggeette tggegetett eegetteete 1200 gctcactgac tcgctgcgct cggtcgttcg gctgcggcga gcggtatcag ctcactcaaa 1260 ggcggtaata cggttatcca cagaatcagg ggataacgca ggaaagaaca tgtgagcaaa 1320 aggccagcaa aaggccagga accgtaaaaa ggccgcgttg ctggcgtttt tccataggct 1380 ccgccccct gacgagcatc acaaaaatcg acgctcaagt cagaggtggc gaaacccgac 1440 aggactataa agataccagg cgtttccccc tggaagctcc ctcgtgcgct ctcctgttcc 1500 gaccetgeeg ettaceggat acctgteege ettteteect tegggaageg tggegetttt 1560 ccgctgcata accctgcttc ggggtcatta tagcgatttt ttcggtatat ccatcctttt 1620 tcgcacgata tacaggattt tgccaaaggg ttcgtgtaga ctttccttgg tgtatccaac 1680 ggcgtcagcc gggcaggata ggtgaagtag gcccacccgc gagcgggtgt tccttcttca 1740 ctgtccctta ttcgcacctg geggtgctca acgggaatcc tgctctgcga ggctggccgg 1800 ctaccgccgg cgtaacagat gagggcaagc ggatggctga tgaaaccaag ccaaccagga 1860 agggcagccc acctatcaag gtgtactgcc ttccagacga acgaagagcg attgaggaaa 1920 aggeggegge ggeeggeatg ageetgtegg cetacetget ggeegtegge cagggetaca 1980 aaatcacggg cgtcgtggac tatgagcacg tccgcgagct ggcccgcatc aatggcgacc 2040 tgggccgcct gggcggcctg ctgaaactct ggctcaccga cgacccgcgc acggcgcggt 2100

teggtgatge caegateete geeetgetgg egaagatega agagaageag gaegagettg 2160 gcaaggtcat gatgggcgtg gtccgcccga gggcagagcc atgacttttt tagccgctaa 2220 aacggccggg gggtgcgcgt gattgccaag cacgtcccca tgcgctccat caagaagagc 2280 gacttcgcgg agctggtgaa gtacatcacc gacgagcaag gcaagaccga gcgcctttgc 2340 gacgctcacc gggctggttg ccctcgccgc tgggctggcg gccgtctatg gccctgcaaa 2400 cgcgccagaa acgccgtcga agccgtgtgc gagacaccgc ggccgccggc gttgtggata 2460 cctcgcggaa aacttggccc tcactgacag atgaggggcg gacgttgaca cttgaggggc 2520 cgactcaccc ggcgcggcgt tgacagatga ggggcaggct cgatttcggc cggcgacgtg 2580 gagetggeea geetegeaaa teggegaaaa egeetgattt taegegagtt teecacagat 2640 gatgtggaca agcctgggga taagtgccct gcggtattga cacttgaggg gcgcgactac 2700 tgacagatga ggggcgcgat ccttgacact tgaggggcag agtgctgaca gatgaggggc 2760 gcacctattg acatttgagg ggctgtccac aggcagaaaa tccagcattt gcaagggttt 2820 ccgcccgttt ttcggccacc gctaacctgt cttttaacct gcttttaaac caatatttat 2880 aaacettgtt tttaaccagg getgegeect gtgegegtga eegegeaege egaagggggg 2940 tgcccccct tctcgaaccc tcccggcccg ctaacgcggg cctcccatcc ccccaggggc 3000 tgcgcccctc ggccgcgaac ggcctcaccc caaaaatggc agcgctggca gtccttgcca 3060 ttgccgggat cggggcagta acgggatggg cgatcagccc gagcgcgacg cccggaagca 3120 ttgacgtgcc gcaggtgctg gcatcgacat tcagcgacca ggtgccgggc agtgagggcg 3180 geggeetggg tggeggeetg ceetteactt eggeegtegg ggeatteacg gaetteatgg 3240 cggggccggc aattittacc ttgggcattc ttggcatagt ggtcgcgggt gccgtgctcg 3300

tgttcggggg tgcgataaac ccagcgaacc atttgaggtg ataggtaaga ttataccgag 3360 gtatgaaaac gagaattgga cctttacaga attactctat gaagcgccat atttaaaaag 3420 ctaccaagac gaagaggatg aagaggatga ggaggcagat tgccttgaat atattgacaa 3480 tactgataag ataatatatc tittatatag aagatatege egtatgtaag gatticaggg 3540 ggcaaggcat aggcagcgcg cttatcaata tatctataga atgggcaaag cataaaaact 3600 tgcatggact aatgcttgaa acccaggaca ataaccttat agcttgtaaa ttctatcata 3660 attgggtaat gactccaact tattgatagt gttttatgtt cagataatgc ccgatgactt 3720 tgtcatgcag ctccaccgat tttgagaacg acagcgactt ccgtcccagc cgtgccaggt 3780 gctgcctcag attcaggtta tgccgctcaa ttcgctgcgt atatcgcttg ctgattacgt 3840 gcagetttee etteaggegg gatteataea geggeeagee ateegteate catateacea 3900 cgtcaaaggg tgacagcagg ctcataagac gccccagcgt cgccatagtg cgttcaccga 3960 atacqtqcqc aacaaccqtc ttccqqaqac tqtcatacqc qtaaaacaqc caqcqctqqc 4020 gcgatttagc cccgacatag ccccactgtt cgtccatttc cgcgcagacg atgacgtcac 4080 tgcccggctg tatgcgcgag gttaccgact gcggcctgag ttttttaagt gacgtaaaat 4140 cgtgttgagg ccaacgccca taatgcgggc tgttgcccgg catccaacgc cattcatggc 4200 catatcaatg attttctggt gcgtaccggg ttgagaagcg gtgtaagtga actgcagttg 4260 ccatgtttta cggcagtgag agcagagata gcgctgatgt ccggcggtgc ttttgccgtt 4320 acgeaceace cegteagtag etgaacagga gggacagetg atagacacag aagecaetgg 4380 agcacctcaa aaacaccatc atacactaaa tcagtaagtt ggcagcatca cccataattg 4440 tggtttcaaa atcggctccg tcgatactat gttatacgcc aactttgaaa acaactttga 4500

aaaagctgtt ttctggtatt taaggtttta gaatgcaagg aacagtgaat tggagttcgt 4560 cttgttataa ttagcttctt ggggtatctt taaatactgt agaaaagagg aaggaaataa 4620 taaatggcta aaatgagaat atcaccggaa ttgaaaaaac tgatcgaaaa ataccgctgc 4680 qtaaaagata cggaaggaat gtctcctgct aaggtatata agctggtggg agaaaatgaa 4740 aacctatatt taaaaatgac ggacagccgg tataaaggga ccacctatga tgtggaacgg 4800 gaaaaggaca tgatgctatg gctggaagga aagctgcctg ttccaaaggt cctgcacttt 4860 gaacggcatg atggctggag caatctgctc atgagtgagg ccgatggcgt cctttgctcg 4920 gaagagtatg aagatgaaca aagccctgaa aagattatcg agctgtatgc ggagtgcatc 4980 aggetettte actecatega catateggat tgteeetata egaatagett agacageege 5040 ttagccgaat tggattactt actgaataac gatctggccg atgtggattg cgaaaactgg 5100 gaagaagaca ctccatttaa agatccgcgc gagctgtatg attttttaaa gacggaaaag 5160 cccgaagagg aacttgtctt ttcccacggc gacctgggag acagcaacat ctttgtgaaa 5220 gatggcaaag taagtggctt tattgatctt gggagaagcg gcagggcgga caagtggtat 5280 gacattgcct tctgcgtccg gtcgatcagg gaggatatcg gggaagaaca gtatgtcgag 5340 ctggatgaat tgttttagta cctagatgtg gcgcaacgat gccggcgaca agcaggagcg 5460 caccgacttc ttccgcatca agtgttttgg ctctcaggcc gaggcccacg gcaagtattt 5520 gggcaagggg tcgctggtat tcgtgcaggg caagattcgg aataccaagt acgagaagga 5580 cggccagacg gtctacggga ccgacttcat tgccgataag gtggattatc tggacaccaa 5640 ggcaccaggc gggtcaaatc aggaataagg gcacattgcc ccggcgtgag tcggggcaat 5700

cccgcaagga gggtgaatga atcggacgtt tgaccggaag gcatacaggc aagaactgat 5760 cgacgcgggg ttttccgccg aggatgccga aaccatcgca agccgcaccg tcatgcgtgc 5820 gccccgcgaa accttccagt ccgtcggctc gatggtccag caagctacgg ccaagatcga 5880 gcgcgacage gtgcaactgg ctcccctgc cctgcccgcg ccatcggccg ccgtggagcg 5940 ttcgcgtcgt ctcgaacagg aggcggcagg tttggcgaag, tcgatgacca tcgacacgcg 6000 aggaactatg acgaccaaga agcgaaaaac cgccggcgag gacctggcaa aacaggtcag 6060 cgaggccaag caggccgcgt tgctgaaaca cacgaagcag cagatcaagg aaatgcagct 6120 ttccttgttc gatattgcgc cgtggccgga cacgatgcga gcgatgccaa acgacacggc 6180 ccgctctgcc ctgttcacca cgcgcaacaa gaaaatcccg cgcgaggcgc tgcaaaacaa 6240 ggtcattttc cacgtcaaca aggacgtgaa gatcacctac accggcgtcg agctgcgggc 6300 cgacgatgac gaactggtgt ggcagcaggt gttggagtac gcgaagcgca cccctatcgg 6360 cgagccgatc accttcacgt tctacgagct ttgccaggac ctgggctggt cgatcaatgg 6420 ccggtattac acgaaggccg aggaatgcct gtcgcgccta caggcgacgg cgatgggctt 6480 cacgteegae egegttggge acctggaate ggtgtegetg etgeaeeget teegegteet 6540 ggaccgtggc aagaaaacgt cccgttgcca ggtcctgatc gacgaggaaa tcgtcgtgct 6600 gtttgctggc gaccactaca cgaaattcat atgggagaag taccgcaagc tgtcgccgac 6660 ggcccgacgg atgttcgact atttcagctc gcaccgggag ccgtacccgc tcaagctgga 6720 aaccttccgc ctcatgtgcg gatcggattc cacccgcgtg aagaagtggc gcgagcaggt 6780 cggcgaagcc tgcgaagagt tgcgaggcag cggcctggtg gaacacgcct gggtcaatga 6840 tgacctggtg cattgcaaac gctagggcct tgtggggtca gttccggctg ggggttcagc 6900

agccagcgct ttactggcat ttcaggaaca agcgggcact gctcgacgca cttgcttcgc 6960 tcaqtatcqc tcgggacgca cggcgcgctc tacgaactgc cgataaacag aggattaaaa 7020 ttgacaattg tgattaaggc tcagattcga cggcttggag cggccgacgt gcaggatttc 7080 cgcgagatcc gattgtcggc cctgaagaaa gctccagaga tgttcgggtc cgtttacgag 7140 cacgaggaga aaaagcccat ggaggcgttc gctgaacggt tgcgagatgc cgtggcattc 7200 ggcgcctaca tcgacggcga gatcattggg ctgtcggtct tcaaacagga ggacggcccc 7260 aaggacgete acaaggegea tetgteegge gttttegtgg ageeegaaca gegaggeega 7320 ggggtegeeg gtatgetget gegggegttg eeggegggtt tattgetegt gatgategte 7380 cgacagattc caacgggaat ctggtggatg cgcatcttca tcctcggcgc acttaatatt 7440 tcgctattct ggagcttgtt gtttatttcg gtctaccgcc tgccgggcgg ggtcgcggcg 7500 acggtaggcg ctgtgcagcc gctgatggtc gtgttcatct ctgccgctct gctaggtagc 7560 ccgatacgat tgatggcggt cctgggggct atttgcggaa ctgcgggcgt ggcgctgttg 7620 gtgttgacac caaacgcagc gctagatcct gtcggcgtcg cagcgggcct ggcgggggcg 7680 gtttccatgg cgttcggaac cgtgctgacc cgcaagtggc aacctcccgt gcctctgctc 7740 acctttaccg cctggcaact ggcggccgga ggacttctgc tcgttccagt agctttagtg 7800 tttgatccgc caatcccgat gcctacagga accaatgttc tcggcctggc gtggctcggc 7860 ctgatcggag cgggtttaac ctacttectt tggttccggg ggatctcgcg actcgaacct 7920 acagttgttt ccttactggg ctttctcagc cccagatctg gggtcgatca gccggggatg 7980 catcaggccg acagtcggaa cttcgggtcc ccgacctgta ccattcggtg agcaatggat 8040 aggggagttg atatcgtcaa cgttcacttc taaagaaata gcgccactca gcttcctcag 8100

cggctttatc cagcgatttc ctattatgtc ggcatagttc tcaagatcga cagcctgtca 8160 cggttaagcg agaaatgaat aagaaggctg ataattcgga tctctgcgag ggagatgata 8220 tttgatcaca ggcagcaacg ctctgtcatc gttacaatca acatgctacc ctccgcgaga 8280 tcatccgtgt ttcaaacccg gcagcttagt tgccgttctt ccgaatagca tcggtaacat 8340 gagcaaagtc tgccgcctta caacggctct cccgctgacg ccgtcccgga ctgatgggct 8400 qcctgtatcg agtggtgatt ttgtgccgag ctgccggtcg gggagctgtt ggctggctgg 8460 tggcaggata tattgtggtg taaacaaatt gacgcttaga caacttaata acacattgcg 8520 gacgttttta atgtactggg gtggtttttc ttttcaccag tgagacgggc aacagctgat 8580 tgcccttcac cgcctggccc tgagagagtt gcagcaagcg gtccacgctg gtttgcccca 8640 gcaggcgaaa atcctgtttg atggtggttc cgaaatcggc aaaatccctt ataaatcaaa 8700 agaatagccc gagatagggt tgagtgttgt tccagtttgg aacaagagtc cactattaaa 8760 gaacgtggac tccaacgtca aagggcgaaa aaccgtctat cagggcgatg gcccactacg 8820 tgaaccatca cccaaatcaa gttttttggg gtcgaggtgc cgtaaagcac taaatcggaa 8880 ccctaaaggg agcccccgat ttagagcttg acggggaaag ccggcgaacg tggcgagaaa 8940 ggaagggaag aaagcgaaag gagcgggcgc cattcaggct gcgcaactgt tgggaagggc 9000 gatcggtgcg ggcctcttcg ctattacgcc agctggcgaa agggggatgt gctgcaaggc 9060 gattaagttg ggtaacgcca gggttttccc agtcacgacg ttgtaaaacg acggccagtg 9120 aattaattcc catcttgaaa gaaatatagt ttaaatattt attgataaaa taacaagtca 9180 ggtattatag tccaagcaaa aacataaatt tattgatgca agtttaaatt cagaaatatt 9240 tcaataactg attatatcag ctggtacatt gccgtagatg aaagactgag tgcgatatta 9300

tgtgtaatac ataaattgat gatatagcta gcttagctca tcggggggatc cgtcgaagct 9360 agettgggte eegeteagaa gaactegtea agaaggegat agaaggegat gegetgegaa 9420 tegggagegg egatacegta aageaegagg aageggteag cecattegee gecaagetet 9480 tcagcaatat cacgggtagc caacgctatg tcctgatagc ggtccgccac acccagccgg 9540 ccacagtcga tgaatccaga aaagcggcca ttttccacca tgatattcgg caagcaggca 9600 tegecatggg teaegacgag atectegeeg tegggeatge gegeettgag cetggegaae 9660 agttcggctg gcgcgagccc ctgatgctct tcgtccagat catcctgatc gacaagaccg 9720 gettecatee gagtaegtge tegetegatg egatgttteg ettggtggte gaatgggeag 9780 gtagccggat caagcgtatg cagccgccgc attgcatcag ccatgatgga tactttctcg 9840 gcaggagcaa ggtgagatga caggagatcc tgccccggca cttcgcccaa tagcagccag 9900 tecetteeeg etteagtgae aacgtegage acagetgege aaggaaegee egtegtggee 9960 agccacgata gccgcgctgc ctcgtcctgc agttcattca gggcaccgga caggtcggtc 10020 ttgacaaaaa gaaccgggcg cccctgcgct gacagccgga acacggcggc atcagagcag 10080 ccgattgtct gttgtgccca gtcatagccg aatagcctct ccacccaagc ggccggagaa 10140 cctgcgtgca atccatcttg ttcaatccaa gctcccatgg gccctcgact agagtcgaga 10200 tctggattga gagtgaatat gagactctaa ttggataccg aggggaattt atggaacgtc 10260 agtggagcat ttttgacaag aaatatttgc tagctgatag tgaccttagg cgacttttga 10320 acgcgcaata atggtttctg acgtatgtgc ttagctcatt aaactccaga aacccgcggc 10380 tgagtggctc cttcaacgtt gcggttctgt cagttccaaa cgtaaaacgg cttgtcccgc 10440 gtcatcggcg ggggtcataa cgtgactccc ttaattctcc gctcatgatc ttgatcccct 10500

gcgccatcag atccttggcg gcaagaaagc catccagttt actttgcagg gcttcccaac 10560 cttaccagag ggcgccccag ctggcaattc cggttcgctt gctgtccata aaaccgccca 10620 gtctagctat cgccatgtaa gcccactgca agctacctgc tttctctttg cgcttgcgtt 10680 ttcccttgtc cagatagccc agtagctgac attcatccgg ggtcagcacc gtttctgcgg 10740 actggctttc tacgtgttcc gcttccttta gcagcccttg cgccctgagt gcttgcggca 10800 gcgtgaagct tgcatgcctg caggtcgacg gcgcgccgag ctcctcgagc aaatttacac 10860 attgccacta aacgtctaaa cccttgtaat ttgtttttgt tttactatgt gtgttatgta 10920 tttgatttgc gataaatttt tatatttggt actaaattta taacaccttt tatgctaacg 10980 tttgccaaca cttagcaatt tgcaagttga ttaattgatt ctaaattatt tttgtcttct 11040 aaatacatat actaatcaac tggaaatgta aatatttgct aatatttcta ctataggaga 11100 attaaagtga gtgaatatgg taccacaagg tttggagatt taattgttgc aatgctgcat 11160 ggatggcata tacaccaaac attcaataat tcttgaggat aataatggta ccacacaaga 11220 tttgaggtgc atgaacgtca cgtggacaaa aggtttagta atttttcaag acaacaatgt 11280 taccacaca aagttttgag gtgcatgcat ggatgccctg tggaaagttt aaaaatattt 11340 tggaaatgat ttgcatggaa gccatgtgta aaaccatgac atccacttgg aggatgcaat 11400 aatgaagaaa actacaaatt tacatgcaac tagttatgca tgtagtctat ataatgagga 11460 ttttgcaata ctttcattca tacacactca ctaagtttta cacgattata atttcttcat 11520 agccagccca ccgcggtgga aa atg gag gtc gtg gag aga ttc tac ggt gag 11572 Met Glu Val Val Glu Arg Phe Tyr Gly Glu 10 1 5

ttg gat ggg aag gtc tcg cag ggc gtg aat gca ttg ctg ggt agt ttt 11620

PCT/EP03/04297 WO 03/093482

Leu Asp Gly Lys Val Ser Gln Gly Val Asn Ala Leu Leu Gly Ser Phe

ggg gtg gag ttg acg gat acg ccc act acc aaa ggc ttg ccc ctc gtt Gly Val Glu Leu Thr Asp Thr Pro Thr Thr Lys Gly Leu Pro Leu Val gac agt ccc aca ccc atc gtc ctc ggt gtt tct gta tac ttg act att Asp Ser Pro Thr Pro Ile Val Leu Gly Val Ser Val Tyr Leu Thr Ile gtc att gga ggg ctt ttg tgg ata aag gcc agg gat ctg aaa ccg cgc Val Ile Gly Gly Leu Leu Trp Ile Lys Ala Arg Asp Leu Lys Pro Arg gcc tcg gag cca ttt ttg ctc caa gct ttg gtg ctt gtg cac aac ctg Ala Ser Glu Pro Phe Leu Leu Gln Ala Leu Val Leu Val His Asn Leu ttc tgt ttt gcg ctc agt ctg tat atg tgc gtg ggc atc gct tat cag Phe Cys Phe Ala Leu Ser Leu Tyr Met Cys Val Gly Ile Ala Tyr Gln gct att acc tgg cgg tac tct ctc tgg ggc aat gca tac aat cct aaa Ala Ile Thr Trp Arg Tyr Ser Leu Trp Gly Asn Ala Tyr Asn Pro Lys cat aaa gag atg gcg att ctg gta tac ttg ttc tac atg tct aag tac His Lys Glu Met Ala Ile Leu Val Tyr Leu Phe Tyr Met Ser Lys Tyr gtg gaa ttc atg gat acc gtt atc atg ata ctg aag cgc agc acc agg Val Glu Phe Met Asp Thr Val Ile Met Ile Leu Lys Arg Ser Thr Arg caa ata ago tto ctc cac gtt tat cat cat tct tca att tcc ctc att

Gln Ile Ser Phe Leu His Val Tyr His His Ser Ser Ile Ser Leu Ile

tgg tgg gct att gct cat cac gct cct ggc ggt gaa gca tat tgg tct

Trp Trp Ala Ile Ala His His Ala Pro Gly Glu Ala Tyr Trp Ser
175 180 185

gcg gct ctg aac tca gga gtg cat gtt ctc atg tat gcg tat tac ttc 12148

Ala Ala Leu Asn Ser Gly Val His Val Leu Met Tyr Ala Tyr Tyr Phe

190 195 200

ttg gct gcc tgc ctt cga agt agc cca aag tta aaa aat aag tac ctt 12196 Leu Ala Ala Cys Leu Arg Ser Ser Pro Lys Leu Lys Asn Lys Tyr Leu 205 210 215

ttt tgg ggc agg tac ttg aca caa ttc caa atg ttc cag ttt atg ctg 12244
Phe Trp Gly Arg Tyr Leu Thr Gln Phe Gln Met Phe Gln Phe Met Leu
220 225 230

aac tta gtg cag gct tac tac gac atg aaa acg aat gcg cca tat cca 12292
Asn Leu Val Gln Ala Tyr Tyr Asp Met Lys Thr Asn Ala Pro Tyr Pro
235 240 245 250

caa tgg ctg atc aag att ttg ttc tac tac atg atc tcg ttg ctg ttt 12340

Gln Trp Leu Ile Lys Ile Leu Phe Tyr Tyr Met Ile Ser Leu Leu Phe

255 260 265

ctt ttc ggc aat ttt tac gta caa aaa tac atc aaa ccc tct gac gga 12388 Leu Phe Gly Asn Phe Tyr Val Gln Lys Tyr Ile Lys Pro Ser Asp Gly 270 275 280

aag caa aag gga gct aaa act gag tga tctagaaggc ctcctgcttt 12435
Lys Gln Lys Gly Ala Lys Thr Glu
285 290

aatgagatat gcgagacgcc tatgatcgca tgatatttgc tttcaattct gttgtgcacg 12495

ttgtaaaaaa cctgagcatg tgtagctcag atccttaccg ccggtttcgg ttcattctaa 12555

tgaatatatc acccgttact atcgtattt tatgaataat attctccgtt caatttactg 12615

attgtccgtc gagcaaattt acacattgcc actaaacgtc taaacccttg taatttgttt 12675

ttgttttact atgtgtgtta tgtatttgat ttgcgataaa tttttatatt tggtactaaa 12735

tttataacac cttttatgct aacgtttgcc aacacttagc aatttgcaag ttgattaatt 12795 gattctaaat tatttttgtc ttctaaatac atatactaat caactggaaa tgtaaatatt 12855 tgctaatatt tctactatag gagaattaaa gtgagtgaat atggtaccac aaggtttgga 12915 gatttaattg ttgcaatgct gcatggatgg catatacacc aaacattcaa taattcttga 12975 ggataataat ggtaccacac aagatttgag gtgcatgaac gtcacgtgga caaaaggttt 13035 agtaattttt caagacaaca atgttaccac acacaagttt tgaggtgcat gcatggatgc 13095 cctgtggaaa gtttaaaaat attttggaaa tgatttgcat ggaagccatg tgtaaaacca 13155 tgacatccac ttggaggatg caataatgaa gaaaactaca aatttacatg caactagtta 13215 tgcatgtagt ctatataatg aggattttgc aatactttca ttcatacaca ctcactaagt 13275 tttacacqat tataatttct tcatagccag cggatcc atg gta ttc gcg ggc ggt 13330 Met Val Phe Ala Gly Gly 295 gga ctt cag cag ggc tct ctc gaa gaa aac atc gac gtc gag cac att 13378 Gly Leu Gln Gln Gly Ser Leu Glu Glu Asn Ile Asp Val Glu His Ile 300 305 310 gcc agt atg tct ctc ttc agc gac ttc ttc agt tat gtg tct tca act 13426 Ala Ser Met Ser Leu Phe Ser Asp Phe Phe Ser Tyr Val Ser Ser Thr 325 320 315 gtt ggt tcg tgg agc gta cac agt ata caa cct ttg aag cgc ctg acg 13474 Val Gly Ser Trp Ser Val His Ser Ile Gln Pro Leu Lys Arg Leu Thr 345 330 335 340 agt aag aag cgt gtt tcg gaa agc gct gcc gtg caa tgt ata tca gct 13522 Ser Lys Lys Arg Val Ser Glu Ser Ala Ala Val Gln Cys Ile Ser Ala 360 350 355

gaa gtt cag aga aat tcg agt acc cag gga act gcg gag gca ctc gca

13570

W O 03/0/3482						172								1 C 1/E1 03/04277			
Glu	Val	Gln	Arg	Asn	Ser	Ser	Thr	Gln	Gly	Thr	Ala	Glu	Ala	Leu	Ala		
			365					370					375				
				-													
gaa	tca	gtc	gtg	aag	ccc	acg	aga	cga	agg	tca	tct	cag	tgg	aag	aag	13618	
				Lys													
		380		-			385	_	•			390					
tcg	aca	cac	ccc	cta	tca	gaa	gta	gca	gta	cac	aac	aag	cca	agc	gat	13666	
Ser	Thr	His	Pro	Leu	Ser	Glu	Val	Ala	Val	His	Asn	Lys	Pro	Ser	Asp		
	395					400					405						
tgc	tgg	att	gtt	gta	aaa	aac	aag	gtg	tat	gat	gtt	tcc	aat	ttt	gcg	13714	
Суѕ	Trp	Ile	Val	Val	Lys	Asn	Lys	Val	Tyr	Asp	Val	Ser	Asn	Phe	Ala		
410					415					420					425		
gac	gag	cat	ccc	gga	gga	tca	gtt	att	agt	act	tat	ttt	gga	cga	gac	13762	
Asp	Glu	His	Pro	Gly	Gly	Ser	Val	Ile	Ser	Thr	Tyr	Phe	Gly	Arg	Asp		
				430					435					440			
ggc	aca	gat	gtt	ttc	tct	agt	ttt	cat	gca	gct	tct	aca	tgg	aaa	att	13810	
Gly	Thr	Asp	Val	Phe	Ser	Ser	Phe	His	Ala	Ala	Ser	Thr	Trp	Lys	Ile		
			445					450					455				
ctt	caa	gac	ttt	tac	att	ggt	gac	gtg	gag	agg	gtg	gag	ccg	act	cca	13858	
Leu	Gln	Asp	Phe	Tyr	Ile	Gly	Asp	Val	Glu	Arg	Val	Glu	Pro	Thr	Pro		
		460					465					470					
gag	ctg	ctg	aaa	gat	ttc	cga	gaa	atg	aga	gct	ctt	ttc	ctg	agg	gag	13906	
Glu	Leu	Leu	Lys	Asp	Phe	Arg	Glu	Met	Arg	Ala	Leu	Phe	Leu	Arg	Glu		
	475					480					485						
caa	ctt	ttc	aaa	agt	tcg	aaa	ttg	tac	tat	gtt	atg	aag	ctg	ctc	acg	13954	
Gln	Leu	Phe	Lys	Ser	Ser	Lys	Leu	Tyr	Tyr	Val	Met	Lys	Leu	Leu	Thr		
490					495					500					505		
aat	gtt	gct	att	ttt	gct	gcg	agc	att.	gca	ata	ata	tgt	tgg	agc	aag	14002	
Asn	Val	Ala	Ile	Phe	Ala	Ala	Ser	Ile	Ala	Ile	Ile	Cys	Trp	Ser	Lys		

515

act att tca gcg gtt ttg gct tca gct tgt atg atg gct ctg tgt ttc 14050

520

510

Thr Ile Ser Ala Val Leu Ala Ser Ala Cys Met Met Ala Leu Cys Phe
525 530 535

caa cag tgc gga tgg cta tcc cat gat ttt ctc cac aat cag gtg ttt 14098 Gln Gln Cys Gly Trp Leu Ser His Asp Phe Leu His Asn Gln Val Phe 540 545 550

gag aca cgc tgg ctt aat gaa gtt gtc ggg tat gtg atc ggc aac gcc 14146
Glu Thr Arg Trp Leu Asn Glu Val Val Gly Tyr Val Ile Gly Asn Ala
555 560 565

gtt ctg ggg ttt agt aca ggg tgg tgg aag gag aag cat aac ctt cat 14194

Val Leu Gly Phe Ser Thr Gly Trp Trp Lys Glu Lys His Asn Leu His

570 580 585

cat gct gct cca aat gaa tgc gat cag act tac caa cca att gat gaa 14242

His Ala Ala Pro Asn Glu Cys Asp Gln Thr Tyr Gln Pro Ile Asp Glu

590 595 600

gat att gat act ctc ccc ctc att gcc tgg agc aag gac ata ctg gcc 14290
Asp Ile Asp Thr Leu Pro Leu Ile Ala Trp Ser Lys Asp Ile Leu Ala
605 610 615

aca gtt gag aat aag aca ttc ttg cga atc ctc caa tac cag cat ctg 14338

Thr Val Glu Asn Lys Thr Phe Leu Arg Ile Leu Gln Tyr Gln His Leu
620 625 630

ttc ttc atg ggt ctg tta ttt ttc gcc cgt ggt agt tgg ctc ttt tgg 14386

Phe Phe Met Gly Leu Leu Phe Phe Ala Arg Gly Ser Trp Leu Phe Trp
635 640 645

agc tgg aga tat acc tct aca gca gtg ctc tca cct gtc gac agg ttg 14434 Ser Trp Arg Tyr Thr Ser Thr Ala Val Leu Ser Pro Val Asp Arg Leu 650 665 666

ttg gag aag gga act gtt ctg ttt cac tac ttt tgg ttc gtc ggg aca 14482 Leu Glu Lys Gly Thr Val Leu Phe His Tyr Phe Trp Phe Val Gly Thr 670 675 680

gcg tgc tat ctt ctc cct ggt tgg aag cca tta gta tgg atg gcg gtg 14530

174																
Ala	Cys	Tyr	Leu	Leu	Pro	Gly	Trp	Lys	Pro	Leu	Val	Trp	Met	Ala	Val	
• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •	• •	-	685			-		690					695			
act	gag	ctc	atσ	tcc	aac	ato	cta	cta	aac	ttt	gta	ttt	gta	ctt	agc	14578
	Glu															
****	014	700		J 01			705		,			710				
		,00														
Cac	aat	מממ	ato	gag	σtt	tat.	aat.	t.ca	tet	aaa	gaa	ttc	ata	agt	σca	14626
	Asn															
nrs	715	Gry	1100	014	• • • •	720		001	001	-,-	725					
	713					,20					, 23					
a24	atc	~+=	+00	262	caa	cat	atc	aaa	aaa	aac	ata	ttc	aac	gac	taa	14674
_	Ile															
	116	vai	Ser	1111	735	ASP	116	БуЗ	Gry	740		1110	1.01.	·	745	
730					/33					740					743	
	act	~~+	~~~		224	200		2+2	~~~	cat	cat	ctt	++~	cca	aca	14722
																14/22
Pne	Thr	GTĀ	GIY		Asn	Arg	GIN	iie		nis	nis	Leu	Pne		THE	
				750					755					760		
															 .	1 4770
_	CCC															14770
Met	Pro	Arg		Asn	Leu	Asn	Lys		Ala	Pro	Arg	Val		Val	Pne	
			765					770					775			
																14010
	aag															14818
Cys	Lys	Lys	His	Gly	Leu	Val		Glu	Asp	Val	Ser		Ala	Thr	GTĀ	
		780					785					790				
								•								
															gca .	14866
Thr	Cys	Lys	Val	Leu	Lys	Ala	Leu	Lys	Glu	Val	Ala	Glu	Ala	Ala	Ala	
	795					800					805					
gag	cag	cat	gct	acc	acc	agt	taa	gcta	agcgt	ta a	accct	gcti	t a	atgaç	gatat	14920
Glu	Gln	His	Ala	Thr	Thr	Ser										
810					815											
								•								
gcg	agac	gec 1	tatga	atcg	ca to	gatai	tttg	c tti	tcaat	tct	gtt	gtgca	acg	ttgta	aaaaa	14980
cct	gagc	atg (tgtag	gctca	ag a	tcct	tacco	g cc	ggtti	cgg	ttca	atto	aa	tgaat	tatatc	15040
											•					

accogttact atogtatttt tatgaataat attotoogtt caatttactg attgtoogtc 15100

gacgaattcg agctcggcgc gcctctagag gatcgatgaa ttcagatcgg ctgagtggct 15160 ccttcaacgt tgcggttctg tcagttccaa acgtaaaacg gcttgtcccg cgtcatcggc 15220 gggggtcata acgtgactcc cttaattctc cgctcatgat cagattgtcg tttcccgcct 15280 tcagtttaaa ctatcagtgt ttgacaggat atattggcgg gtaaacctaa gagaaaagag 15340 cgtttattag aataatcgga tatttaaaag ggcgtgaaaa ggtttatcct tcgtccattt 15400 gtatgtgcat gccaaccaca gggttcccca 15430

<210> 44

<211> 290

<212> PRT

<213> Unknown

<400> 44

Met Glu Val Val Glu Arg Phe Tyr Gly Glu Leu Asp Gly Lys Val Ser

1 5 10 15

Gln Gly Val Asn Ala Leu Leu Gly Ser Phe Gly Val Glu Leu Thr Asp 20 25 30

Thr Pro Thr Thr Lys Gly Leu Pro Leu Val Asp Ser Pro Thr Pro Ile 35 40 45

Val Leu Gly Val Ser Val Tyr Leu Thr Ile Val Ile Gly Gly Leu Leu 50 55 60

Trp Ile Lys Ala Arg Asp Leu Lys Pro Arg Ala Ser Glu Pro Phe Leu 65 70 75 80

Leu Gln Ala Leu Val Leu Val His Asn Leu Phe Cys Phe Ala Leu Ser 85 90 95

Leu Tyr Met Cys Val Gly Ile Ala Tyr Gln Ala Ile Thr Trp Arg Tyr

100 105 110

176

Ser Leu Trp Gly Asn Ala Tyr Asn Pro Lys His Lys Glu Met Ala Ile 115 120 125

Leu Val Tyr Leu Phe Tyr Met Ser Lys Tyr Val Glu Phe Met Asp Thr 130 135 140

Val Ile Met Ile Leu Lys Arg Ser Thr Arg Gln Ile Ser Phe Leu His 145 150 155 160

Val Tyr His His Ser Ser Ile Ser Leu Ile Trp Trp Ala Ile Ala His 165 170 175

His Ala Pro Gly Glu Ala Tyr Trp Ser Ala Ala Leu Asn Ser Gly 180 185 190

Val His Val Leu Met Tyr Ala Tyr Tyr Phe Leu Ala Ala Cys Leu Arg 195 200 205

Ser Ser Pro Lys Leu Lys Asn Lys Tyr Leu Phe Trp Gly Arg Tyr Leu 210 215 220

Thr Gln Phe Gln Met Phe Gln Phe Met Leu Asn Leu Val Gln Ala Tyr 225 230 235 240

Tyr Asp Met Lys Thr Asn Ala Pro Tyr Pro Gln Trp Leu Ile Lys Ile
245 250 255

Leu Phe Tyr Tyr Met Ile Ser Leu Leu Phe Leu Phe Gly Asn Phe Tyr
260 265 270

Val Gln Lys Tyr Ile Lys Pro Ser Asp Gly Lys Gln Lys Gly Ala Lys 275 280 285

Thr Glu

290

<210> 45

<211> 525

<212> PRT

<213> Unknown

<400> 45

Met Val Phe Ala Gly Gly Gly Leu Gln Gln Gly Ser Leu Glu Glu Asn
1 5 10 15

Ile Asp Val Glu His Ile Ala Ser Met Ser Leu Phe Ser Asp Phe Phe 20 25 30

Ser Tyr Val Ser Ser Thr Val Gly Ser Trp Ser Val His Ser Ile Gln
35 40 45

Pro Leu Lys Arg Leu Thr Ser Lys Lys Arg Val Ser Glu Ser Ala Ala 50 55 60

Val Gln Cys Ile Ser Ala Glu Val Gln Arg Asn Ser Ser Thr Gln Gly
65 70 75 80

Thr Ala Glu Ala Leu Ala Glu Ser Val Val Lys Pro Thr Arg Arg Arg 85 90 95

Ser Ser Gln Trp Lys Lys Ser Thr His Pro Leu Ser Glu Val Ala Val
100 105 110

His Asn Lys Pro Ser Asp Cys Trp Ile Val Val Lys Asn Lys Val Tyr 115 120 125

Asp Val Ser Asn Phe Ala Asp Glu His Pro Gly Gly Ser Val Ile Ser 130 135 140

Thr Tyr Phe Gly Arg Asp Gly Thr Asp Val Phe Ser Ser Phe His Ala 145 150 155 160

Ala Ser Thr Trp Lys Ile Leu Gln Asp Phe Tyr Ile Gly Asp Val Glu 165 170 175

Arg Val Glu Pro Thr Pro Glu Leu Leu Lys Asp Phe Arg Glu Met Arg 180 185 190

Ala Leu Phe Leu Arg Glu Gln Leu Phe Lys Ser Ser Lys Leu Tyr Tyr

Val Met Lys Leu Leu Thr Asn Val Ala Ile Phe Ala Ala Ser Ile Ala

Ile Ile Cys Trp Ser Lys Thr Ile Ser Ala Val Leu Ala Ser Ala Cys

Met Met Ala Leu Cys Phe Gln Gln Cys Gly Trp Leu Ser His Asp Phe

Leu His Asn Gln Val Phe Glu Thr Arg Trp Leu Asn Glu Val Val Gly

Tyr Val Ile Gly Asn Ala Val Leu Gly Phe Ser Thr Gly Trp Trp Lys

Glu Lys His Asn Leu His His Ala Ala Pro Asn Glu Cys Asp Gln Thr

Tyr Gln Pro Ile Asp Glu Asp Ile Asp Thr Leu Pro Leu Ile Ala Trp

Ser Lys Asp Ile Leu Ala Thr Val Glu Asn Lys Thr Phe Leu Arg Ile

Leu Gln Tyr Gln His Leu Phe Phe Met Gly Leu Leu Phe Phe Ala Arg

Gly Ser Trp Leu Phe Trp Ser Trp Arg Tyr Thr Ser Thr Ala Val Leu

Ser Pro Val Asp Arg Leu Leu Glu Lys Gly Thr Val Leu Phe His Tyr

Phe Trp Phe Val Gly Thr Ala Cys Tyr Leu Leu Pro Gly Trp Lys Pro

Leu Val Trp Met Ala Val Thr Glu Leu Met Ser Gly Met Leu Leu Gly

410

415

179

405

Phe Val Phe Val Leu Ser His Asn Gly Met Glu Val Tyr Asn Ser Ser
420 425 430

Lys Glu Phe Val Ser Ala Gln Ile Val Ser Thr Arg Asp Ile Lys Gly
435 440 445

Asn Ile Phe Asn Asp Trp Phe Thr Gly Gly Leu Asn Arg Gln Ile Glu 450 455 460

His His Leu Phe Pro Thr Met Pro Arg His Asn Leu Asn Lys Ile Ala 465 470 470 480

Pro Arg Val Glu Val Phe Cys Lys Lys His Gly Leu Val Tyr Glu Asp
485 490 495

Val Ser Ile Ala Thr Gly Thr Cys Lys Val Leu Lys Ala Leu Lys Glu 500 505 510

Val Ala Glu Ala Ala Glu Gln His Ala Thr Thr Ser
515 520 525

<210> 46

<211> 17752

<212> DNA

<213> Unknown

<220>

<223> pflanz. Expressionsvektor mit 3
 Promotor-Terminator- Expressionskassetten
 inseriert mit Physcomitrella Elongase + Desaturase
 + Phaeodactylum Desaturase

<220>

<221> CDS

<222> (11543)..(12415)

<220>

<221> CDS

<222> (13313)..(14890)

<220>

<221> CDS

<222> (15791)..(17200)

<400> 46

gatctggcgc cggccagcga gacgagcaag attggccgcc gcccgaaacg atccgacagc 60 gcgcccagca caggtgcgca ggcaaattgc accaacgcat acagcgccag cagaatgcca 120 tagtgggcgg tgacgtcgtt cgagtgaacc agatcgcgca ggaggcccgg cagcaccggc 180 ataatcaggc cgatgccgac agcgtcgagc gcgacagtgc tcagaattac gatcaggggt 240 atgttgggtt tcacgtctgg cctccggacc agcctccgct ggtccgattg aacgcgcgga 300 ttctttatca ctgataagtt ggtggacata ttatgtttat cagtgataaa gtgtcaagca 360 tgacaaagtt gcagccgaat acagtgatcc gtgccgccct ggacctgttg aacgaggtcg 420 gcgtagacgg tctgacgaca cgcaaactgg cggaacggtt gggggttcag cagccggcgc 480 tttactggca cttcaggaac aagcgggcgc tgctcgacgc actggccgaa gccatgctgg 540 cggagaatca tacgcattcg gtgccgagag ccgacgacga ctggcgctca tttctgatcg 600 ggaatgcccg cagcttcagg caggcgctgc tcgcctaccg cgatggcgcg cgcatccatg 660 ccggcacgcg accgggcgca ccgcagatgg aaacggccga cgcgcagctt cgcttcctct 720 qcqaqqcqqq tttttcqqcc ggggacqccg tcaatqcqct gatqacaatc agctacttca 780 ctgttggggc cgtgcttgag gagcaggccg gcgacagcga tgccggcgag cgcggcggca 840 ccgttgaaca ggctccgctc tcgccgctgt tgcgggccgc gatagacgcc ttcgacgaag 900 ccggtccgga cgcagcgttc gagcagggac tcgcggtgat tgtcgatgga ttggcgaaaa 960

ggaggctcgt tgtcaggaac gttgaaggac cgagaaaggg tgacgattga tcaggaccgc 1020 tgccggagcg caacccactc actacagcag agccatgtag acaacatccc ctccccttt 1080 ccaccacate agacgecegt ageagecege tacgggettt tteatgecet geeetagegt 1140 ccaaqcetea eggeegect eggeetetet ggeggeette tggegetett eegetteete 1200 geteactgae tegetgeget eggtegtteg getgeggega geggtateag eteacteaaa 1260 ggcggtaata cggttatcca cagaatcagg ggataacgca ggaaagaaca tgtgagcaaa 1320 aggccagcaa aaggccagga accgtaaaaa ggccgcgttg ctggcgtttt tccataggct 1380 ecgececet gacgageate acaaaaateg acgeteaagt cagaggtgge gaaacecgae 1440 aggactataa agataccagg cgtttccccc tggaagctcc ctcgtgcgct ctcctgttcc 1500 gaccetgeeg ettaceggat acctgteege ettteteeet tegggaageg tggegetttt 1560 ccqctqcata accctqcttc ggggtcatta tagcgatttt ttcggtatat ccatcctttt 1620 tcgcacgata tacaggattt tgccaaaggg ttcgtgtaga ctttccttgg tgtatccaac 1680 ggcgtcagcc gggcaggata ggtgaagtag gcccacccgc gagcgggtgt tccttcttca 1740 ctgtccctta ttcgcacctg gcggtgctca acgggaatcc tgctctgcga ggctggccgg 1800 ctaccgccgg cgtaacagat gagggcaagc ggatggctga tgaaaccaag ccaaccagga 1860 agggcagece acetateaag gtgtaetgee tteeagaega aegaagageg attgaggaaa 1920 aggeggegge ggeeggeatg ageetgtegg cetacetget ggeegtegge cagggetaca 1980 aaatcacggg cgtcgtggac tatgagcacg tccgcgagct ggcccgcatc aatggcgacc 2040 tgggccgcct gggcggcctg ctgaaactct ggctcaccga cgacccgcgc acggcgcggt 2100 tegatgatge cacqatecte geeetgetgg egaagatega agagaageag gaegagettg 2160

gcaaggtcat gatgggcgtg gtccgcccga gggcagagcc atgacttttt tagccgctaa 2220 aacggccggg gggtgcgcgt gattgccaag cacgtcccca tgcgctccat caagaagagc 2280 gacttegegg agetggtgaa gtacateace gaegageaag geaagaeega gegeetttge 2340 gacgeteace gggetggttg ceetegeege tgggetggeg geegtetatg geeetgeaaa 2400 cgcgccagaa acgccgtcga agccgtgtgc gagacaccgc ggccgccggc gttgtggata 2460 cctcgcggaa aacttggccc tcactgacag atgaggggcg gacgttgaca cttgaggggc 2520 cgactcaccc ggcgcggcgt tgacagatga ggggcaggct cgatttcggc cggcgacgtg 2580 gagctggcca gcctcgcaaa tcggcgaaaa cgcctgattt tacgcgagtt tcccacagat 2640 gatgtggaca agcctgggga taagtgccct geggtattga cacttgaggg gegegactae 2700 tgacagatga ggggcgcgat ccttgacact tgaggggcag agtgctgaca gatgaggggc 2760 gcacctattg acatttgagg ggctgtccac aggcagaaaa tccagcattt gcaagggttt 2820 ccgcccgttt ttcggccacc gctaacctgt cttttaacct gcttttaaac caatatttat 2880 aaaccttgtt tttaaccagg gctgcgccct gtgcgcgtga ccgcgcacgc cgaagggggg 2940 tgcccccct tctcgaaccc tcccggcccg ctaacgcggg cctcccatcc ccccaggggc 3000 tgcgcccctc ggccgcgaac ggcctcaccc caaaaatggc agcgctggca gtccttgcca 3060 ttgccgggat cggggcagta acgggatggg cgatcagccc gagcgcgacg cccggaagca 3120 ttgacgtgcc gcaggtgctg gcatcgacat tcagcgacca ggtgccgggc agtgagggcg 3180 geggeetggg tggeggeetg ceetteactt eggeegtegg ggeatteaeg gaetteatgg 3240 cggggccggc aatttttacc ttgggcattc ttggcatagt ggtcgcgggt gccgtgctcg 3300 tgttcggggg tgcgataaac ccagcgaacc atttgaggtg ataggtaaga ttataccgag 3360

gtatgaaaac gagaattgga cctttacaga attactctat gaagcgccat atttaaaaag 3420 ctaccaagac gaagaggatg aagaggatga ggaggcagat tgccttgaat atattgacaa 3480 tactgataag ataatatatc tittatatag aagatatcgc cgtatgtaag gatticaggg 3540 ggcaaggcat aggcagcgcg cttatcaata tatctataga atgggcaaag cataaaaact 3600 tgcatggact aatgcttgaa acccaggaca ataaccttat agcttgtaaa ttctatcata 3660 attgggtaat gactccaact tattgatagt gttttatgtt cagataatgc ccgatgactt 3720 tgtcatgcag ctccaccgat tttgagaacg acagcgactt ccgtcccagc cgtgccaggt 3780 gctgcctcag attcaggtta tgccgctcaa ttcgctgcgt atatcgcttg ctgattacgt 3840 gcagctttcc cttcaggcgg gattcataca gcggccagcc atccgtcatc catatcacca 3900 cgtcaaaggg tgacagcagg ctcataagac gccccagcgt cgccatagtg cgttcaccga 3960 atacgtgcgc aacaaccgtc ttccggagac tgtcatacgc gtaaaacagc cagcgctggc 4020 gcgatttagc cccgacatag ccccactgtt cgtccatttc cgcgcagacg atgacgtcac 4080 tgcccggctg tatgcgcgag gttaccgact gcggcctgag ttttttaagt gacgtaaaat 4140 cgtgttgagg ccaacgccca taatgcgggc tgttgcccgg catccaacgc cattcatggc 4200 catatcaatg attitictggt gcgtaccggg ttgagaagcg gtgtaagtga actgcagttg 4260 ccatgtttta cggcagtgag agcagagata gcgctgatgt ccggcggtgc ttttgccgtt 4320 acgcaccacc ccgtcagtag ctgaacagga gggacagctg atagacacag aagccactgg 4380 agcacctcaa aaacaccatc atacactaaa tcagtaagtt ggcagcatca cccataattg 4440 tggtttcaaa atcggctccg tcgatactat gttatacgcc aactttgaaa acaactttga 4500 aaaagctgtt ttctggtatt taaggtttta gaatgcaagg aacagtgaat tggagttcgt 4560

cttgttataa ttagcttctt ggggtatctt taaatactgt agaaaagagg aaggaaataa 4620 taaatggcta aaatgagaat atcaccggaa ttgaaaaaac tgatcgaaaa ataccgctgc 4680 gtaaaagata cggaaggaat gtctcctgct aaggtatata agctggtggg agaaaatgaa 4740 aacctatatt taaaaatgac ggacagccgg tataaaggga ccacctatga tgtggaacgg 4800 gaaaaggaca tgatgctatg gctggaagga aagctgcctg ttccaaaggt cctgcacttt 4860 gaacggcatg atggctggag caatctgctc atgagtgagg ccgatggcgt cctttgctcg 4920 gaagagtatg aagatgaaca aagccctgaa aagattatcg agctgtatgc ggagtgcatc 4980 aggetettte actecatega catateggat tgtecetata egaatagett agacageege 5040 ttagccgaat tggattactt actgaataac gatctggccg atgtggattg cgaaaactgg 5100 gaagaagaca ctccatttaa agatccgcgc gagctgtatg attttttaaa gacggaaaag 5160 cccgaagagg aacttgtctt ttcccacggc gacctgggag acagcaacat ctttgtgaaa 5220 gatggcaaag taagtggctt tattgatctt gggagaagcg gcagggcgga caagtggtat 5280 gacattgcct totgcgtccg gtcgatcagg gaggatatcg gggaagaaca gtatgtcgag 5340 ctggatgaat tgttttagta cctagatgtg gcgcaacgat gccggcgaca agcaggagcg 5460 caccgacttc ttccgcatca agtgttttgg ctctcaggcc gaggcccacg gcaagtattt 5520 gggcaagggg tcgctggtat tcgtgcaggg caagattcgg aataccaagt acgagaagga 5580 cggccagacg gtctacggga ccgacttcat tgccgataag gtggattatc tggacaccaa 5640 ggcaccaggc gggtcaaatc aggaataagg gcacattgcc ccggcgtgag tcggggcaat 5700 cccgcaagga gggtgaatga atcggacgtt tgaccggaag gcatacaggc aagaactgat 5760

cgacgcgggg ttttccgccg aggatgccga aaccatcgca agccgcaccg tcatgcgtgc 5820 gccccgcgaa accttccagt ccgtcggctc gatggtccag caagctacgg ccaagatcga 5880 gegegaeage gigeaacigg elecceeige ceigeeegeg cealeggeeg eegiggageg 5940 ttcgcgtcgt ctcgaacagg aggcggcagg tttggcgaag tcgatgacca tcgacacgcg 6000 aggaactatg acgaccaaga agcgaaaaac cgccggcgag gacctggcaa aacaggtcag 6060 cgaggccaag caggccgcgt tgctgaaaca cacgaagcag cagatcaagg aaatgcagct 6120 ttccttgttc gatattgcgc cgtggccgga cacgatgcga gcgatgccaa acgacacggc 6180 ccgctctgcc ctgttcacca cgcgcaacaa gaaaatcccg cgcgaggcgc tgcaaaacaa 6240 ggtcattttc cacgtcaaca aggacgtgaa gatcacctac accggcgtcg agctgcgggc 6300 cgacgatgac gaactggtgt ggcagcaggt gttggagtac gcgaagcgca cccctatcgg 6360 cgagccgatc accttcacgt tctacgagct ttgccaggac ctgggctggt cgatcaatgg 6420 ccggtattac acgaaggccg aggaatgcct gtcgcgccta caggcgacgg cgatgggctt 6480 cacgtccgac cgcgttgggc acctggaatc ggtgtcgctg ctgcaccgct tccgcgtcct 6540 ggaccgtggc aagaaaacgt cccgttgcca ggtcctgatc gacgaggaaa tcgtcgtgct 6600 gtttgctggc gaccactaca cgaaattcat atgggagaag taccgcaagc tgtcgccgac 6660 ggcccgacgg atgttcgact atttcagctc gcaccgggag ccgtacccgc tcaagctgga 6720 aacetteege eteatgtgeg gateggatte caceegegtg aagaagtgge gegageaggt 6780 cggcgaagcc tgcgaagagt tgcgaggcag cggcctggtg gaacacgcct gggtcaatga 6840 tgacctggtg cattgcaaac gctagggcct tgtggggtca gttccggctg ggggttcagc 6900 agccagcgct ttactggcat ttcaggaaca agcgggcact gctcgacgca cttgcttcgc 6960

tcagtatcgc tcgggacgca cggcgcgctc tacgaactgc cgataaacag aggattaaaa 7020 ttgacaattg tgattaaggc tcagattcga cggcttggag cggccgacgt gcaggatttc 7080 cgcgagatcc gattgtcggc cctgaagaaa gctccagaga tgttcgggtc cgtttacgag 7140 cacgaggaga aaaagcccat ggaggcgttc gctgaacggt tgcgagatgc cgtggcattc 7200 ggcgcctaca tcgacggcga gatcattggg ctgtcggtct tcaaacagga ggacggcccc 7260 aaggacgctc acaaggcgca tctgtccggc gttttcgtgg agcccgaaca gcgaggccga 7320 ggggtcgccg gtatgctgct gcgggcgttg ccggcgggtt tattgctcgt gatgatcgtc 7380 cgacagattc caacgggaat ctggtggatg cgcatcttca tcctcggcgc acttaatatt 7440 tegetattet ggagettgtt gtttattteg gtetacegee tgeegggegg ggtegeggeg 7500 acggtaggcg ctgtgcagcc gctgatggtc gtgttcatct ctgccgctct gctaggtagc 7560 ccgatacgat tgatggcggt cctgggggct atttgcggaa ctgcgggcgt ggcgctgttg 7620 gtgttgacac caaacgcagc gctagatcct gtcggcgtcg cagcggggcct ggcgggggcg 7680 gtttccatgg cgttcggaac cgtgctgacc cgcaagtggc aacctcccgt gcctctgctc 7740 acctttaccg cctggcaact ggcggccgga ggacttctgc tcgttccagt agctttagtg 7800 tttgatccgc caatcccgat gcctacagga accaatgttc tcggcctggc gtggctcggc 7860 ctgatcggag cgggtttaac ctacttectt tggttccggg ggatctcgcg actcgaacct 7920 acagttgttt ccttactggg ctttctcagc cccagatctg gggtcgatca gccggggatg 7980 catcaggccg acagtcggaa cttcgggtcc ccgacctgta ccattcggtg agcaatggat 8040 aggggagttg atatcgtcaa cgttcacttc taaagaaata gcgccactca gcttcctcag 8100 eggetttate eagegattte etattatgte ggeatagtte teaagatega eageetgtea 8160

cggttaagcg agaaatgaat aagaaggctg ataattcgga tctctgcgag ggagatgata 8220 tttgatcaca ggcagcaacg ctctgtcatc gttacaatca acatgctacc ctccgcgaga 8280 tcatccqtqt ttcaaacccq gcagcttagt tgccgttctt ccgaatagca tcggtaacat 8340 gagcaaagtc tgccgcctta caacggctct cccgctgacg ccgtcccgga ctgatgggct 8400 gcctgtatcg agtggtgatt ttgtgccgag ctgccggtcg gggagctgtt ggctggctgg 8460 tggcaggata tattgtggtg taaacaaatt gacgcttaga caacttaata acacattgcg 8520 gacgttttta atgtactggg gtggtttttc ttttcaccag tgagacgggc aacagctgat 8580 tgcccttcac cgcctggccc tgagagagtt gcagcaagcg gtccacgctg gtttgcccca 8640 gcaggcgaaa atcctgtttg atggtggttc cgaaatcggc aaaatccctt ataaatcaaa 8700 agaatagccc gagatagggt tgagtgttgt tccagtttgg aacaagagtc cactattaaa 8760 gaacgtggac tccaacgtca aagggcgaaa aaccgtctat cagggcgatg gcccactacg 8820 tgaaccatca cccaaatcaa gttttttggg gtcgaggtgc cgtaaagcac taaatcggaa 8880 ccctaaaggg agccccgat ttagagcttg acggggaaag ccggcgaacg tggcgagaaa 8940 ggaagggaag aaagcgaaag gagcgggcgc cattcaggct gcgcaactgt tgggaagggc 9000 gateggtgeg ggeetetteg etattacgee agetggegaa aggggggatgt getgeaagge 9060 gattaagttg ggtaacgcca gggttttccc agtcacgacg ttgtaaaacg acggccagtg 9120 aattaattcc catcttgaaa gaaatatagt ttaaatattt attgataaaa taacaagtca 9180 ggtattatag tccaagcaaa aacataaatt tattgatgca agtttaaatt cagaaatatt 9240 tcaataactg attatatcag ctggtacatt gccgtagatg aaagactgag tgcgatatta 9300 tgtgtaatac ataaattgat gatatagcta gcttagctca tcggggggatc cgtcgaagct 9360

agcttgggtc ccgctcagaa gaactcgtca agaaggcgat agaaggcgat gcgctgcgaa 9420 tegggagegg egatacegta aageaegagg aageggteag eccattegee gecaagetet 9480 teageaatat caegggtage caaegetatg teetgatage ggteegeeae acceageegg 9540 ccacagtega tgaatecaga aaageggeea ttttccacca tgatattegg caageaggea 9600 tegecatggg teaegacgag atectegeeg tegggeatge gegeettgag eetggegaae 9660 agtteggetg gegegagece etgatgetet tegteeagat cateetgate gacaagaeeg 9720 gcttccatcc gagtacgtgc tcgctcgatg cgatgtttcg cttggtggtc gaatgggcag 9780 gtagccggat caagcgtatg cagccgccgc attgcatcag ccatgatgga tactttctcg 9840 gcaggagcaa ggtgagatga caggagatcc tgccccggca cttcgcccaa tagcagccag 9900 tecetteeeg etteagtgae aaegtegage aeagetgege aaggaaegee egtegtggee 9960 agccacgata gccgcgctgc ctcgtcctgc agttcattca gggcaccgga caggtcggtc 10020 ttgacaaaaa gaaccgggcg cccctgcgct gacagccgga acacggcggc atcagagcag 10080 ccqattqtct gttqtqccca gtcatagccg aatagcctct ccacccaagc ggccggagaa 10140 cctgcgtgca atccatcttg ttcaatccaa gctcccatgg gccctcgact agagtcgaga 10200 tctggattga gagtgaatat gagactctaa ttggataccg aggggaattt atggaacgtc 10260 agtggagcat ttttgacaag aaatatttgc tagctgatag tgaccttagg cgacttttga 10320 acgegeaata atggtttetg aegtatgtge ttageteatt aaaeteeaga aaccegegge 10380 tgagtggctc cttcaacgtt gcggttctgt cagttccaaa cgtaaaacgg cttgtcccgc 10440 gtcatcggcg ggggtcataa cgtgactccc ttaattctcc gctcatgatc ttgatcccct 10500 gegecateag atcettggeg geaagaaage cateeagttt aetttgeagg getteeeaac 10560

cttaccagag ggcgccccag ctggcaattc cggttcgctt gctgtccata aaaccgccca 10620 gtctagctat cgccatgtaa gcccactgca agctacctgc tttctctttg cgcttgcgtt 10680 ttcccttgtc cagatagccc agtagctgac attcatccgg ggtcagcacc gtttctgcgg 10740 actggctttc tacgtgttcc gcttccttta gcagcccttg cgccctgagt gcttgcggca 10800 qcqtgaaqct tgcatgcctg caggtcgacg gcgcgcgag ctcctcgagc aaatttacac 10860 attgccacta aacgtctaaa cccttgtaat ttgtttttgt tttactatgt gtgttatgta 10920 tttgatttgc gataaatttt tatatttggt actaaattta taacaccttt tatgctaacg 10980 tttgccaaca cttagcaatt tgcaagttga ttaattgatt ctaaattatt tttgtcttct 11040 aaatacatat actaatcaac tggaaatgta aatatttgct aatatttcta ctataggaga 11100 attaaagtga gtgaatatgg taccacaagg tttggagatt taattgttgc aatgctgcat 11160 ggatggcata tacaccaaac attcaataat tcttgaggat aataatggta ccacacaaga 11220 tttgaggtgc atgaacgtca cgtggacaaa aggtttagta atttttcaag acaacaatgt 11280 taccacacac aagttttgag gtgcatgcat ggatgccctg tggaaagttt aaaaatattt 11340 tggaaatgat ttgcatggaa gccatgtgta aaaccatgac atccacttgg aggatgcaat 11400 aatgaagaaa actacaaatt tacatgcaac tagttatgca tgtagtctat ataatgagga 11460 ttttgcaata ctttcattca tacacactca ctaagtttta cacgattata atttcttcat 11520 agccagccca ccgcggtgga aa atg gag gtc gtg gag aga ttc tac ggt gag 11572 Met Glu Val Val Glu Arg Phe Tyr Gly Glu 1 5 10

ttg gat ggg aag gtc tcg cag ggc gtg aat gca ttg ctg ggt agt ttt 11620 Leu Asp Gly Lys Val Ser Gln Gly Val Asn Ala Leu Leu Gly Ser Phe

15 20 25

ggg gtg gag ttg acg gat acg ccc act acc aaa ggc ttg ccc ctc gtt Gly Val Glu Leu Thr Asp Thr Pro Thr Thr Lys Gly Leu Pro Leu Val gac agt ccc aca ccc atc gtc ctc ggt gtt tct gta tac ttg act att Asp Ser Pro Thr Pro Ile Val Leu Gly Val Ser Val Tyr Leu Thr Ile gtc att gga ggg ctt ttg tgg ata aag gcc agg gat ctg aaa ccg cgc Val Ile Gly Gly Leu Leu Trp Ile Lys Ala Arg Asp Leu Lys Pro Arg gcc tcg gag cca ttt ttg ctc caa gct ttg gtg ctt gtg cac aac ctg Ala Ser Glu Pro Phe Leu Leu Gln Ala Leu Val Leu Val His Asn Leu ttc tgt ttt gcg ctc agt ctg tat atg tgc gtg ggc atc gct tat cag Phe Cys Phe Ala Leu Ser Leu Tyr Met Cys Val Gly Ile Ala Tyr Gln gct att acc tgg cgg tac tct ctc tgg ggc aat gca tac aat cct aaa Ala Ile Thr Trp Arg Tyr Ser Leu Trp Gly Asn Ala Tyr Asn Pro Lys cat aaa gag atg gcg att ctg gta tac ttg ttc tac atg tct aag tac His Lys Glu Met Ala Ile Leu Val Tyr Leu Phe Tyr Met Ser Lys Tyr gtg gaa ttc atg gat acc gtt atc atg ata ctg aag cgc agc acc agg Val Glu Phe Met Asp Thr Val Ile Met Ile Leu Lys Arg Ser Thr Arg caa ata agc ttc ctc cac gtt tat cat cat tct tca att tcc ctc att Gln Ile Ser Phe Leu His Val Tyr His His Ser Ser Ile Ser Leu Ile

tgg tgg gct att gct cat cac gct cct ggc ggt gaa gca tat tgg tct

Trp Trp Ala Ile Ala His His Ala Pro Gly Glu Ala Tyr Trp Ser

474	
gcg gct ctg aac tca gga gtg cat gtt ctc atg tat gcg tat tac ttc 1214	18
Ala Ala Leu Asn Ser Gly Val His Val Leu Met Tyr Ala Tyr Tyr Phe	
190 195 200	
ttg gct gcc tgc ctt cga agt agc cca aag tta aaa aat aag tac ctt 1219	96
Leu Ala Ala Cys Leu Arg Ser Ser Pro Lys Leu Lys Asn Lys Tyr Leu	
205 210 215	
ttt tgg ggc agg tac ttg aca caa ttc caa atg ttc cag ttt atg ctg 1224	14
Phe Trp Gly Arg Tyr Leu Thr Gln Phe Gln Met Phe Gln Phe Met Leu	
220 225 230	
1220	12
aac tta gtg cag gct tac tac gac atg aaa acg aat gcg cca tat cca 1229	, 2
Asn Leu Val Gln Ala Tyr Tyr Asp Met Lys Thr Asn Ala Pro Tyr Pro	
235 240 245 250	
caa tgg ctg atc aag att ttg ttc tac tac atg atc tcg ttg ctg ttt 1234	10
Gln Trp Leu Ile Lys Ile Leu Phe Tyr Tyr Met Ile Ser Leu Leu Phe	
255 260 265	•
ctt ttc ggc aat ttt tac gta caa aaa tac atc aaa ccc tct gac gga 123	38
Leu Phe Gly Asn Phe Tyr Val Gln Lys Tyr Ile Lys Pro Ser Asp Gly	
270 275 280	
aag caa aag gga gct aaa act gag tga tctagaaggc ctcctgcttt 124.	35
Lys Gln Lys Gly Ala Lys Thr Glu	
285 290	
124	35
aatgagatat gcgagacgcc tatgatcgca tgatatttgc tttcaattct gttgtgcacg 124	7.5
105	
ttgtaaaaaa cctgagcatg tgtagctcag atccttaccg ccggtttcgg ttcattctaa 125))
tgaatatatc accepttact ateptatttt tatgaataat atteteegtt caatttactg 126	15
attgtccgtc gagcaaattt acacattgcc actaaacgtc taaacccttg taatttgttt 126	75
ttgttttact atgtgtgtta tgtatttgat ttgcgataaa tttttatatt tggtactaaa 127	35
tttataacac cttttatgct aacgtttgcc aacacttagc aatttgcaag ttgattaatt 127	95

qattctaaat tatttttgtc ttctaaatac atatactaat caactggaaa tgtaaatatt 12855 tgctaatatt tctactatag gagaattaaa gtgagtgaat atggtaccac aaggtttgga 12915 gatttaattg ttgcaatgct gcatggatgg catatacacc aaacattcaa taattcttga 12975 ggataataat ggtaccacac aagatttgag gtgcatgaac gtcacgtgga caaaaggttt 13035 agtaattttt caagacaaca atgttaccac acacaagttt tgaggtgcat gcatggatgc 13095 cctgtggaaa gtttaaaaat attttggaaa tgatttgcat ggaagccatg tgtaaaacca 13155 tgacatccac ttggaggatg caataatgaa gaaaactaca aatttacatg caactagtta 13215 tgcatgtagt ctatataatg aggattttgc aatactttca ttcatacaca ctcactaagt 13275 tttacacgat tataatttct tcatagccag cggatcc atg gta ttc gcg ggc ggt 13330 Met Val Phe Ala Gly Gly 295 gga ctt cag cag ggc tct ctc gaa gaa aac atc gac gtc gag cac att 13378 Gly Leu Gln Gln Gly Ser Leu Glu Glu Asn Ile Asp Val Glu His Ile 305 310 300 gee agt atg tet etc tte age gae tte tte agt tat gtg tet tea act 13426 Ala Ser Met Ser Leu Phe Ser Asp Phe Phe Ser Tyr Val Ser Ser Thr 325 320 315 gtt ggt tcg tgg agc gta cac agt ata caa cct ttg aag cgc ctg acg 13474 Val Gly Ser Trp Ser Val His Ser Ile Gln Pro Leu Lys Arg Leu Thr 330 335 340 345 agt aag aag cgt gtt tcg gaa agc gct gcc gtg caa tgt ata tca gct 13522 Ser Lys Lys Arg Val Ser Glu Ser Ala Ala Val Gln Cys Ile Ser Ala 355 360 350 gaa gtt cag aga aat tcg agt acc cag gga act gcg gag gca ctc gca 13570 Glu Val Gln Arg Asn Ser Ser Thr Gln Gly Thr Ala Glu Ala Leu Ala

370

365

gaa tca gtc gtg aag ccc acg aga cga agg tca tct cag tgg aag aag 13618 Glu Ser Val Val Lys Pro Thr Arg Arg Ser Ser Gln Trp Lys Lys

380 385 390

tcg aca cac ccc cta tca gaa gta gca gta cac aac aag cca agc gat 13666 Ser Thr His Pro Leu Ser Glu Val Ala Val His Asn Lys Pro Ser Asp 395 400 405

tgc tgg att gtt gta aaa aac aag gtg tat gat gtt tcc aat ttt gcg 13714 Cys Trp Ile Val Val Lys Asn Lys Val Tyr Asp Val Ser Asn Phe Ala 410 415 420 425

gac gag cat ccc gga gga tca gtt att agt act tat ttt gga cga gac 13762
Asp Glu His Pro Gly Gly Ser Val Ile Ser Thr Tyr Phe Gly Arg Asp
430 435 440

ggc aca gat gtt ttc tct agt ttt cat gca gct tct aca tgg aaa att 13810
Gly Thr Asp Val Phe Ser Ser Phe His Ala Ala Ser Thr Trp Lys Ile
445 450 455

ctt caa gac ttt tac att ggt gac gtg gag agg gtg gag ccg act cca 13858 Leu Gln Asp Phe Tyr Ile Gly Asp Val Glu Arg Val Glu Pro Thr Pro 460 465 470

gag ctg ctg aaa gat ttc cga gaa atg aga gct ctt ttc ctg agg gag 13906 Glu Leu Leu Lys Asp Phe Arg Glu Met Arg Ala Leu Phe Leu Arg Glu 475 480 485

caa ctt ttc aaa agt tcg aaa ttg tac tat gtt atg aag ctg ctc acg 13954

Gln Leu Phe Lys Ser Ser Lys Leu Tyr Tyr Val Met Lys Leu Leu Thr

490 500 505

aat gtt gct att ttt gct gcg agc att gca ata ata tgt tgg agc aag 14002 Asn Val Ala Ile Phe Ala Ala Ser Ile Ala Ile Ile Cys Trp Ser Lys 510 515 520

act att tca gcg gtt ttg gct tca gct tgt atg atg gct ctg tgt ttc 14050

Thr Ile Ser Ala Val Leu Ala Ser Ala Cys Met Met Ala Leu Cys Phe
525 530 535

									_							
caa	cag	tgc	gga	tgg	cta	tcc	cat	gat	ttt	ctc	cac	aat	cag	gtg	ttt	14098
Gln	Gln	Cys	Gly	Trp	Leu	Ser	His	Asp	Phe	Leu	His	Asn	Gln	Val	Phe	
		540					545					550				
gag	aca	cgc	tgg	ctt	aat	gaa	gtt	gtc	ggg	tat	gtg	atc	ggc	aac	gcc	14146
-	Thr															
	555	5	2-			560			•	-	565		_			
att	ctg	aaa	ttt	agt	aca	aaa	t.aa	t.aa	aaσ	σaσ	aaσ	cat	aac	ctt	cat	14194
	Leu															
	Leu	Gry	File	Ser		Gry	11p	110	2,3	580	2,5			200	585	
570					575					200					303	
						•	- _								~~~	14242
	gct															14242
His	Ala	Ala	Pro		Glu	Cys	Asp	Gin		Tyr	GIN	Pro	TTE		GIU	
				590					595					600		
gat	att	gat	act	ctc	ccc	ctc	att	gcc	tgg	agc	aag	gac	ata	ctg	gcc	14290
Asp	Ile	Asp	Thr	Leu	Pro	Leu	Ile	Ala	Trp	Ser	Lys	Asp	Ile	Leu	Ala	
			605					610					615			
									•							
aca	gtt	gag	aat	aag	aca	ttc	ttg	cga	atc	ctc	caa	tac	cag	cat	ctg	14338
Thr	Val	Glu	Asn	Lys	Thr	Phe	Leu	Arg	Ile	Leu	Gln	Tyr	Gln	His	Leu	
		620					625					630				
ttc	ttc	atσ	aat	cta	tta	ttt	ttc	gcc	cgt	ggt	agt	tgg	ctc	ttt	tgg	14386
	Phe	-														
	635					640			_	•	645	-			_	
	033					010										
	tgg			200	tat	202	ac.	ata	ctc	tca	cct	ata	cac	acc	tta	14434
_		_														11101
_	Trp	Arg	туг	THE		THE	Ald	vai	reu		PIO	vaı	ASD	Arg		
650					655					660					665	
_	gag															14482
Leu	Glu	Lys	Gly	Thr	Val	Leu	Phe	His	Tyr	Phe	Trp	Phe	Val	Gly	Thr	
				670					675					680	•	
gcg	tgc	tat	ctt	ctc	cct	ggt	tgg	aag	cca	tta	gta	tgg	atg	gcg	gtg	14530
Ala	Cys	Tyr	Leu	Leu	Pro	Gly	Trp	Lys	Pro	Leu	Val	Trp	Met	Ala	Val	
			685					690					695			

WO 03/093482 PCT/EP03/04297 195 act gag ctc atg tcc ggc atg ctg ctg ggc ttt gta ttt gta ctt agc 14578 Thr Glu Leu Met Ser Gly Met Leu Leu Gly Phe Val Phe Val Leu Ser 705 700 710 cac aat ggg atg gag gtt tat aat tcg tct aaa gaa ttc gtg agt gca 14626 His Asn Gly Met Glu Val Tyr Asn Ser Ser Lys Glu Phe Val Ser Ala 725 715 cag atc gta tcc aca cgg gat atc aaa gga aac ata ttc aac gac tgg 14674 Gln Ile Val Ser Thr Arg Asp Ile Lys Gly Asn Ile Phe Asn Asp Trp 740 745 730 735 ttc act ggt ggc ctt aac agg caa ata gag cat cat ctt ttc cca aca 14722 Phe Thr Gly Gly Leu Asn Arg Gln Ile Glu His His Leu Phe Pro Thr 750 760 atg ccc agg cat aat tta aac aaa ata gca cct aga gtg gag gtg ttc 14770 Met Pro Arg His Asn Leu Asn Lys Ile Ala Pro Arg Val Glu Val Phe 765 770 775 tgt aag aaa cac ggt ctg gtg tac gaa gac gta tct att gct acc ggc 14818 Cys Lys Lys His Gly Leu Val Tyr Glu Asp Val Ser Ile Ala Thr Gly 780 785 790 act tgc aag gtt ttg aaa gca ttg aag gaa gtc gcg gag gct gcg gca 14866 Thr Cys Lys Val Leu Lys Ala Leu Lys Glu Val Ala Glu Ala Ala Ala 800 805 795 gag cag cat gct acc acc agt taa gctagcgtta accctgcttt aatgagatat 14920 Glu Gln His Ala Thr Thr Ser

810 815

gcgagacgcc tatgatcgca tgatatttgc tttcaattct gttgtgcacg ttgtaaaaaa 14980 cctgagcatg tgtagctcag atccttaccg ccggtttcgg ttcattctaa tgaatatatc 15040 accepttact ategtattt tatgaataat atteteegtt caatttactg attgteegte 15100 gagcaaattt acacattgcc actaaacgtc taaacccttg taatttgttt ttgttttact 15160

									- 4	.70						
atg	gtgt	ta	tgta	tttga	at t	tgcg	ataaa	a tti	tttai	tatt	tgg	tact	aaa	tttai	taacac	15220
ctt	tatg	jct a	aacgi	tttg	cc a	acac	ttago	c aat	tttg	caag	ttga	atta	att (gatto	ctaaat	15280
tati	tttg	jtc 1	ttcta	aaata	ac a	tata	ctaat	caa	actg	gaaa	tgta	aata	att	tgcta	aatatt	15340
tcta	actat	ag (gagaa	attaa	aa g	tgagi	tgaat	ato	gtad	ccac	aagg	gttt	gga (gatti	taattg	15400
ttgo	caatg	jct (gcato	ggato	gg ca	atata	acaco	c aaa	acatt	caa	taat	tct	tga (ggata	aataat	15460
ggta	accac	ac a	aagat	ttga	ag gi	tgcai	tgaad	gto	cacgt	gga	caaa	aggi	ttt i	agtaa	attttt	15520
caag	gacaa	ıca a	atgtt	tacca	ac a	cacaa	agttt	tga	aggto	gcat	gcat	ggai	tgc (cctgt	tggaaa	15580
gttt	aaaa	at a	attt	tggaa	aa t	gatti	tgcat	gga	aagco	atg	tgta	aaa	cca	tgaca	atccac	15640
ttgg	gagga	tg (caata	aatga	aa ga	aaaa	ctaca	a aat	ttac	atg	caa	tag	tta	tgcat	tgtagt	15700
ctat	ataa	itg a	aggat	t t tç	gc aa	atacı	tttca	a tto	catao	caca	ctca	acta	agt :	tttad	cacgat	15760
tata	attt	ct (tcata	agcca	ag ca	agato	ctaaa				Ası				g ctt s Leu 825	15814
								Met	: Ala	820	Ası	Ala	a Ası	p Lys	825	
cga	caa	cgc	cag	acg	act	gcg	gta	Met gcg	aag	820 cac	Ası) aat	gct	a Asp	p Lys	825 ata	15814 15862
cga		cgc	cag	acg	act	gcg	gta	Met gcg	aag	820 cac	Ası) aat	gct	a Asp	p Lys	825 ata	
cga Arg	caa	cgc Arg	cag Gln	acg Thr 830	act Thr	gcg Ala	gta Val	Met gcg Ala	aag Lys 835	820 cac His	aat Asn	gct Ala	gct Ala	acc Thr	825 ata Ile	
cga Arg	caa Gln	cgc Arg	cag Gln gaa	acg Thr 830	act Thr	gcg Ala tgc	gta Val agt	Met gcg Ala ctg	aag Lys 835	820 cac His	aat Asn	gct Ala	gct Ala	acc Thr 840	825 ata Ile	15862
cga Arg	caa Gln acg	cgc Arg	cag Gln gaa	acg Thr 830	act Thr	gcg Ala tgc	gta Val agt	Met gcg Ala ctg	aag Lys 835	820 cac His	aat Asn	gct Ala	gct Ala	acc Thr 840	825 ata Ile	15862
cga Arg tcg Ser	caa Gln acg	cgc Arg cag Gln	cag Gln gaa Glu 845	acg Thr 830 cgc Arg	act Thr ctt Leu	gcg Ala tgc Cys	gta Val agt Ser	gcg Ala ctg Leu 850	aag Lys 835 tct Ser	820 cac His tcg Ser	aat Asn ctc Leu	gct Ala aaa Lys	gct Ala ggc Gly 855	acc Thr 840 gaa Glu	825 ata Ile gaa Glu	15862
cga Arg tcg Ser	caa Gln acg Thr	cgc Arg cag Gln	cag Gln gaa Glu 845	acg Thr 830 cgc Arg	act Thr ctt Leu	gcg Ala tgc Cys	gta Val agt Ser	gcg Ala ctg Leu 850	aag Lys 835 tct Ser	cac His tcg Ser	aat Asn ctc Leu	gct Ala aaa Lys	gct Ala ggc Gly 855	acc Thr 840 gaa Glu	ata Ile gaa Glu	15862 15910
cga Arg tcg Ser	caa Gln acg Thr	cgc Arg cag Gln	cag Gln gaa Glu 845	acg Thr 830 cgc Arg	act Thr ctt Leu	gcg Ala tgc Cys	gta Val agt Ser	gcg Ala ctg Leu 850	aag Lys 835 tct Ser	cac His tcg Ser	aat Asn ctc Leu	gct Ala aaa Lys	gct Ala ggc Gly 855	acc Thr 840 gaa Glu	ata Ile gaa Glu	15862 15910
cga Arg tcg Ser gtc Val	caa Gln acg Thr tgc Cys	cgc Arg cag Gln atc Ile 860	cag Gln gaa Glu 845 gac Asp	acg Thr 830 cgc Arg gga Gly	act Thr ctt Leu atc	gcg Ala tgc Cys atc	gta Val agt Ser tat Tyr 865	gcg Ala ctg Leu 850 gac Asp	aag Lys 835 tct Ser ctc Leu	cac His tcg Ser	aat Asn ctc Leu tca	gct Ala aaa Lys ttc Phe 870	gct Ala ggc Gly 855 gat Asp	acc Thr 840 gaa Glu cat	ata Ile gaa Glu ccc Pro	15862 15910
cga Arg tcg Ser gtc Val	caa Gln acg Thr	cgc Arg cag Gln atc Ile 860	cag Gln gaa Glu 845 gac Asp	acg Thr 830 cgc Arg gga Gly	act Thr ctt Leu atc Ile	gcg Ala tgc Cys atc Ile	gta Val agt Ser tat Tyr 865	gcg Ala ctg Leu 850 gac Asp	aag Lys 835 tct Ser ctc Leu	cac His tcg Ser	aat Asn ctc Leu tca Ser	gct Ala aaa Lys ttc Phe 870	gct Ala ggc Gly 855 gat Asp	acc Thr 840 gaa Glu cat His	ata Ile gaa Glu ccc Pro	15862 15910 15958
cga Arg tcg Ser gtc Val	caa Gln acg Thr tgc Cys	cgc Arg cag Gln atc Ile 860	cag Gln gaa Glu 845 gac Asp	acg Thr 830 cgc Arg gga Gly	act Thr ctt Leu atc Ile	gcg Ala tgc Cys atc Ile	gta Val agt Ser tat Tyr 865	gcg Ala ctg Leu 850 gac Asp	aag Lys 835 tct Ser ctc Leu	cac His tcg Ser	aat Asn ctc Leu tca Ser	gct Ala aaa Lys ttc Phe 870	gct Ala ggc Gly 855 gat Asp	acc Thr 840 gaa Glu cat His	ata Ile gaa Glu ccc Pro	15862 15910 15958

tac aag atg att cac ccg tac cat acc gag aag cat ttg gaa aag atg Tyr Lys Met Ile His Pro Tyr His Thr Glu Lys His Leu Glu Lys Met aag cgt gtc ggc aag gtg acg gat ttc gtc tgc gag tac aag ttc gat Lys Arg Val Gly Lys Val Thr Asp Phe Val Cys Glu Tyr Lys Phe Asp acc gaa ttt gaa cgc gaa atc aaa cga gaa gtc ttc aag att gtg cga Thr Glu Phe Glu Arg Glu Ile Lys Arg Glu Val Phe Lys Ile Val Arg cga ggc aag gat ttc ggt act ttg gga tgg ttc ttc cgt gcg ttt tgc Arg Gly Lys Asp Phe Gly Thr Leu Gly Trp Phe Phe Arg Ala Phe Cys tac att gcc att ttc ttc tac ctg cag tac cat tgg gtc acc acg gga Tyr Ile Ala Ile Phe Phe Tyr Leu Gln Tyr His Trp Val Thr Thr Gly acc tct tgg ctg ctg gcc gtg gcc tac gga atc tcc caa gcg atg att Thr Ser Trp Leu Leu Ala Val Ala Tyr Gly Ile Ser Gln Ala Met Ile ggc atg aat gtc cag cac gat gcc aac cac ggg gcc acc tcc aag cgt Gly Met Asn Val Gln His Asp Ala Asn His Gly Ala Thr Ser Lys Arg ccc tgg gtc aac gac atg cta ggc ctc ggt gcg gat ttt att ggt ggt Pro Trp Val Asn Asp Met Leu Gly Leu Gly Ala Asp Phe Ile Gly Gly tcc aag tgg ctc tgg cag gaa caa cac tgg acc cac cac gct tac acc Ser Lys Trp Leu Trp Gln Glu Gln His Trp Thr His His Ala Tyr Thr aat cac gcc gag atg gat ccc gat agc ttt ggt gcc gaa cca atg ctc Asn His Ala Glu Met Asp Pro Asp Ser Phe Gly Ala Glu Pro Met Leu

WO 03/093482

PCT/EP03/04297 cta ttc aac gac tat ccc ttg gat cat ccc gct cgt acc tgg cta cat Leu Phe Asn Asp Tyr Pro Leu Asp His Pro Ala Arg Thr Trp Leu His cgc ttt caa gca ttc ttt tac atg ccc gtc ttg gct gga tac tgg ttg Arg Phe Gln Ala Phe Phe Tyr Met Pro Val Leu Ala Gly Tyr Trp Leu tcc gct gtc ttc aat cca caa att ctt gac ctc cag caa cgc ggc gca Ser Ala Val Phe Asn Pro Gln Ile Leu Asp Leu Gln Gln Arg Gly Ala ctt tcc gtc ggt atc cgt ctc gac aac gct ttc att cac tcg cga cgc Leu Ser Val Gly Ile Arg Leu Asp Asn Ala Phe Ile His Ser Arg Arg aag tat gcg gtt ttc tgg cgg gct gtg tac att gcg gtg aac gtg att Lys Tyr Ala Val Phe Trp Arg Ala Val Tyr Ile Ala Val Asn Val Ile get eeg ttt tae aca aac tee gge ete gaa tgg tee tgg egt gte ttt Ala Pro Phe Tyr Thr Asn Ser Gly Leu Glu Trp Ser Trp Arg Val Phe gga aac atc atg ctc atg ggt gtg gcg gaa tcg ctc gcg ctg gcg gtc Gly Asn Ile Met Leu Met Gly Val Ala Glu Ser Leu Ala Leu Ala Val ctg ttt tcg ttg tcg cac aat ttc gaa tcc gcg gat cgc gat ccg acc Leu Phe Ser Leu Ser His Asn Phe Glu Ser Ala Asp Arg Asp Pro Thr gcc cca ctg aaa aag acg gga gaa cca gtc gac tgg ttc aag aca cag Ala Pro Leu Lys Lys Thr Gly Glu Pro Val Asp Trp Phe Lys Thr Gln gtc gaa act tcc tgc act tac ggt gga ttc ctt tcc ggt tgc ttc acg

Val Glu Thr Ser Cys Thr Tyr Gly Gly Phe Leu Ser Gly Cys Phe Thr

gga ggt ctc aac ttt cag gtt gaa cac cac ttg ttc cca cgc atg agc 17014
Gly Gly Leu Asn Phe Gln Val Glu His His Leu Phe Pro Arg Met Ser
1210 1215 1220 1225

agc gct tgg tat ccc tac att gcc ccc aag gtc cgc gaa att tgc gcc 17062 Ser Ala Trp Tyr Pro Tyr Ile Ala Pro Lys Val Arg Glu Ile Cys Ala 1230 1235 1240

aaa cac ggc gtc cac tac gcc tac tac ccg tgg atc cac caa aac ttt 17110 Lys His Gly Val His Tyr Ala Tyr Tyr Pro Trp Ile His Gln Asn Phe 1245 1250 1255

ctc tcc acc gtc cgc tac atg cac gcg gcc ggg acc ggt gcc aac tgg 17158

Leu Ser Thr Val Arg Tyr Met His Ala Ala Gly Thr Gly Ala Asn Trp

1260 1265 1270

cgc cag atg gcc aga gaa aat ccc ttg acc gga cgg gcg taa 17200
Arg Gln Met Ala Arg Glu Asn Pro Leu Thr Gly Arg Ala
1275 1280 1285

agatetgeeg geategatee egggeeatgg cetgetttaa tgagatatge gagaegeeta 17260
tgategeatg atatttgett teaattetgt tgtgeaegtt gtaaaaaace tgageatgtg 17320
tageteagat cettacegee ggttteggtt cattetaatg aatatateae eegttaetat 17380
egtatttta tgaataatat teteegttea atttactgat tgteegtega egagetegge 17440
gegeetetag aggategatg aatteagate ggetgagtgg eteetteaae gttgeggtte 17500
tgteagttee aaaegtaaaa eggettgtee egegteateg gegggggtea taaegtgaet 17560
eeettaatte teegeteatg ateagattgt egtteeege etteagtta aactateagt 17620
gtttgaeagg atatattgge gggtaaaeet aagagaaaag agegtttatt agaataateg 17680
gatatttaaa agggegtgaa aaggtttate ettegteeat ttgtatgtge atgeeaacea 17740
eagggtteee ea

<210> 47

<211> 290

<212> PRT

<213> Unknown

<400> 47

Met Glu Val Val Glu Arg Phe Tyr Gly Glu Leu Asp Gly Lys Val Ser

Gln Gly Val Asn Ala Leu Leu Gly Ser Phe Gly Val Glu Leu Thr Asp

Thr Pro Thr Thr Lys Gly Leu Pro Leu Val Asp Ser Pro Thr Pro Ile

Val Leu Gly Val Ser Val Tyr Leu Thr Ile Val Ile Gly Gly Leu Leu

Trp Ile Lys Ala Arg Asp Leu Lys Pro Arg Ala Ser Glu Pro Phe Leu

Leu Gln Ala Leu Val Leu Val His Asn Leu Phe Cys Phe Ala Leu Ser

Leu Tyr Met Cys Val Gly Ile Ala Tyr Gln Ala Ile Thr Trp Arg Tyr

Ser Leu Trp Gly Asn Ala Tyr Asn Pro Lys His Lys Glu Met Ala Ile

Leu Val Tyr Leu Phe Tyr Met Ser Lys Tyr Val Glu Phe Met Asp Thr

Val Ile Met Ile Leu Lys Arg Ser Thr Arg Gln Ile Ser Phe Leu His

Val Tyr His His Ser Ser Ile Ser Leu Ile Trp Trp Ala Ile Ala His

His Ala Pro Gly Gly Glu Ala Tyr Trp Ser Ala Ala Leu Asn Ser Gly
180 185 190

Val His Val Leu Met Tyr Ala Tyr Tyr Phe Leu Ala Ala Cys Leu Arg 195 200 205

Ser Ser Pro Lys Leu Lys Asn Lys Tyr Leu Phe Trp Gly Arg Tyr Leu 210 215 220

Thr Gln Phe Gln Met Phe Gln Phe Met Leu Asn Leu Val Gln Ala Tyr 225 230 235 240

Tyr Asp Met Lys Thr Asn Ala Pro Tyr Pro Gln Trp Leu Ile Lys Ile
245 250 255

Leu Phe Tyr Tyr Met Ile Ser Leu Leu Phe Leu Phe Gly Asn Phe Tyr
260 265 270

Val Gln Lys Tyr Ile Lys Pro Ser Asp Gly Lys Gln Lys Gly Ala Lys 275 280 285

Thr Glu 290

<210> 48

<211> 525

<212> PRT

<213> Unknown

<400> 48

Met Val Phe Ala Gly Gly Gly Leu Gln Gln Gly Ser Leu Glu Glu Asn
1 5 10 15

Ile Asp Val Glu His Ile Ala Ser Met Ser Leu Phe Ser Asp Phe Phe 20 25 30

Ser Tyr Val Ser Ser Thr Val Gly Ser Trp Ser Val His Ser Ile Gln
35 40 45

Pro Leu Lys Arg Leu Thr Ser Lys Lys Arg Val Ser Glu Ser Ala Ala 50 55 60

Val Gln Cys Ile Ser Ala Glu Val Gln Arg Asn Ser Ser Thr Gln Gly
65 70 75 80

Thr Ala Glu Ala Leu Ala Glu Ser Val Val Lys Pro Thr Arg Arg Arg 85 90 95

Ser Ser Gln Trp Lys Lys Ser Thr His Pro Leu Ser Glu Val Ala Val
100 105 110

His Asn Lys Pro Ser Asp Cys Trp Ile Val Val Lys Asn Lys Val Tyr
115 120 125

Asp Val Ser Asn Phe Ala Asp Glu His Pro Gly Gly Ser Val Ile Ser 130 135 140

Thr Tyr Phe Gly Arg Asp Gly Thr Asp Val Phe Ser Ser Phe His Ala 145 150 155 160

Ala Ser Thr Trp Lys Ile Leu Gln Asp Phe Tyr Ile Gly Asp Val Glu 165 170 175

Arg Val Glu Pro Thr Pro Glu Leu Leu Lys Asp Phe Arg Glu Met Arg 180 185 190

Ala Leu Phe Leu Arg Glu Gln Leu Phe Lys Ser Ser Lys Leu Tyr Tyr
195 200 205

Val Met Lys Leu Leu Thr Asn Val Ala Ile Phe Ala Ala Ser Ile Ala 210 215 220

Ile Ile Cys Trp Ser Lys Thr Ile Ser Ala Val Leu Ala Ser Ala Cys
225 230 235 240

Met Met Ala Leu Cys Phe Gln Gln Cys Gly Trp Leu Ser His Asp Phe 245 250 255

Leu His Asn Gln Val Phe Glu Thr Arg Trp Leu Asn Glu Val Val Gly

260 265 270

Tyr Val Ile Gly Asn Ala Val Leu Gly Phe Ser Thr Gly Trp Trp Lys
275 280 285

Glu Lys His Asn Leu His His Ala Ala Pro Asn Glu Cys Asp Gln Thr 290 295 300

Tyr Gln Pro Ile Asp Glu Asp Ile Asp Thr Leu Pro Leu Ile Ala Trp 305 310 315 320

Ser Lys Asp Ile Leu Ala Thr Val Glu Asn Lys Thr Phe Leu Arg Ile 325 330 335

Leu Gln Tyr Gln His Leu Phe Phe Met Gly Leu Leu Phe Phe Ala Arg 340 345 350

Gly Ser Trp Leu Phe Trp Ser Trp Arg Tyr Thr Ser Thr Ala Val Leu 355 360 365

Ser Pro Val Asp Arg Leu Leu Glu Lys Gly Thr Val Leu Phe His Tyr 370 375 380

Phe Trp Phe Val Gly Thr Ala Cys Tyr Leu Leu Pro Gly Trp Lys Pro 385 390 395 400

Leu Val Trp Met Ala Val Thr Glu Leu Met Ser Gly Met Leu Leu Gly
405 410 415

Phe Val Phe Val Leu Ser His Asn Gly Met Glu Val Tyr Asn Ser Ser 420 425 430

Lys Glu Phe Val Ser Ala Gln Ile Val Ser Thr Arg Asp Ile Lys Gly 435 440 445

Asn Ile Phe Asn Asp Trp Phe Thr Gly Gly Leu Asn Arg Gln Ile Glu
450 455 460

His His Leu Phe Pro Thr Met Pro Arg His Asn Leu Asn Lys Ile Ala 465 470 475 480

WO 03/093482 204

Pro Arg Val Glu Val Phe Cys Lys His Gly Leu Val Tyr Glu Asp . 485 490

Val Ser Ile Ala Thr Gly Thr Cys Lys Val Leu Lys Ala Leu Lys Glu 505 510 500

Val Ala Glu Ala Ala Glu Gln His Ala Thr Thr Ser 515 520 525

<210> 49

<211> 469

<212> PRT

<213> Unknown

<400> 49

Met Ala Pro Asp Ala Asp Lys Leu Arg Gln Arg Gln Thr Thr Ala Val

Ala Lys His Asn Ala Ala Thr Ile Ser Thr Gln Glu Arg Leu Cys Ser 30 25 20

Leu Ser Ser Leu Lys Gly Glu Glu Val Cys Ile Asp Gly Ile Ile Tyr 35 40

Asp Leu Gln Ser Phe Asp His Pro Gly Glu Thr Ile Lys Met Phe 55 50

Gly Gly Asn Asp Val Thr Val Gln Tyr Lys Met Ile His Pro Tyr His 65 70 75

Thr Glu Lys His Leu Glu Lys Met Lys Arg Val Gly Lys Val Thr Asp 90 95 85

Phe Val Cys Glu Tyr Lys Phe Asp Thr Glu Phe Glu Arg Glu Ile Lys 105 100

Arg Glu Val Phe Lys Ile Val Arg Arg Gly Lys Asp Phe Gly Thr Leu 125 115 120

Gly Trp Phe Phe Arg Ala Phe Cys Tyr Ile Ala Ile Phe Phe Tyr Leu Gln Tyr His Trp Val Thr Thr Gly Thr Ser Trp Leu Leu Ala Val Ala Tyr Gly Ile Ser Gln Ala Met Ile Gly Met Asn Val Gln His Asp Ala Asn His Gly Ala Thr Ser Lys Arg Pro Trp Val Asn Asp Met Leu Gly Leu Gly Ala Asp Phe Ile Gly Gly Ser Lys Trp Leu Trp Gln Glu Gln His Trp Thr His His Ala Tyr Thr Asn His Ala Glu Met Asp Pro Asp Ser Phe Gly Ala Glu Pro Met Leu Leu Phe Asn Asp Tyr Pro Leu Asp His Pro Ala Arg Thr Trp Leu His Arg Phe Gln Ala Phe Phe Tyr Met Pro Val Leu Ala Gly Tyr Trp Leu Ser Ala Val Phe Asn Pro Gln Ile Leu Asp Leu Gln Gln Arg Gly Ala Leu Ser Val Gly Ile Arg Leu Asp Asn Ala Phe Ile His Ser Arg Arg Lys Tyr Ala Val Phe Trp Arg Ala Val Tyr Ile Ala Val Asn Val Ile Ala Pro Phe Tyr Thr Asn Ser Gly Leu Glu Trp Ser Trp Arg Val Phe Gly Asn Ile Met Leu Met Gly Val

<210> 51

<211> 265

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Polylinker-Terminator-Polylinker

<400> 51

ccaccgcggt gggcggccgc ctgcagtcta gaaggcctcc tgctttaatg agatatgcga 60 gacgcctatg atcgcatgat atttgctttc aattctgttg tgcacgttgt aaaaaacctg 120 agcatgtgta gctcagatcc ttaccgccgg tttcggttca ttctaatgaa tatatcaccc 180 gttactatcg tatttttatg aataatattc tccgttcaat ttactgattg tccgtcgacg 240 aattcgagct cggcgcgca agctt 265

<210> 52

<211> 257 ·

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Polylinker-Terminator-Polylinker

<400> 52

ggatccgata tcgggcccgc tagcgttaac cctgctttaa tgagatatgc gagacgccta 60
tgatcgcatg atatttgctt tcaattctgt tgtgcacgtt gtaaaaaacc tgagcatgtg 120
tagctcagat ccttaccgcc ggtttcggtt cattctaatg aatatatcac ccgttactat 180
cgtattttta tgaataatat tctccgttca atttactgat tgtccgtcga cgaattcgag 240
ctcggcgcgc caagctt 257

<210> 53

<211> 257

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Polylinker-Terminator-Polylinker

<400> 53

ctcggcgcgc caagett

agatetgeeg geategatee egggeeatgg eetgetttaa tgagatatge gagaegeeta 60
tgategeatg atatttgett teaattetgt tgtgeaegtt gtaaaaaace tgageatgtg 120
tageteagat eettaeegee ggttteggtt eattetaatg aatatateae eegttaetat 180
egtatttta tgaataatat teteegttea atttaetgat tgteegtega egaattegag 240

This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning Operations and is not part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ✓ BLACK BORDERS
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT OR DRAWING
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- GRAY SCALE DOCUMENTS
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- REFERENCE (S) OR EXHIBIT (S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY

	•			•
•	OTHER:	 ·	 	

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image problem Mailbox.